

Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava
Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství
Katedra chemie

Test akutní toxicity na žábřonožce slaniskové, včetně
určení semichronické toxicity pro hořčici bílou u vodného
výluhu stavebního odpadu

Diplomová práce

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Anna Benková**

Studijní program: N3909 Procesní inženýrství

Studijní obor: 3911T008 Chemické a fyzikální metody zkoušení materiálů

Téma: Test akutní toxicity na žábřonozce slániskové, včetně určení
semichronické toxicity pro hořčici bílou u vodného výluhu stavebního
odpadu
Acute toxicity tests on *Artemia salina*, including the determination of
semichronic toxicity for mustard on aqueous leachate of building waste

Jazyk vypracování: slovenština

Zásady pro vypracování:

1. Literární rešerše na stavební odpady a zkoušené ekotoxické testy.
2. Provedení akutního testu ekotoxicity na *Artemia salina* pro výluh stavebního odpadu.
4. Provedení semichronického testu ekotoxicity na *Sinapis alba* L. pro výluh stavebního odpadu.
5. Základní chemická charakterizace stavebního odpadu.

Seznam doporučené odborné literatury:

1. KOČÍ, V., K. MOCOVÁ, M. KULOVANÁ a S. VOSÁHLVÁ. Phytotoxicity tests of solid wastes and contaminated soils in the Czech Republic. *Environmental Science and Pollution Research*. 2010, 2010(3): 611-624.
2. WILKE, B.M., F. RIEPERT, Ch. KOCH a T. KÜHNE. 2008. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 70(2): 283-293.
3. CEN pr EN 14735, 2003. Characterization of waste-preparation of waste samples for ecotoxicity tests. 2003. European Committee for Standardization. Brussels: European Committee for Standardization.
4. OECD, 2000. Guideline for The Testing of Chemicals, Proposal for Updating Guideline 208, Terrestrial (non-target) Plant Test: 208A: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. 2000. OECD. OECD: OECD.
5. DVOŘÁK, P. 1995. Modifikovaný test s *A. salina* pro sledování vlivu interakcí cizorodých látek. In: Sborník referátů ze 7. konference Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. In: Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. Milenovice: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický a Aqachemie, s. 25-29. ISBN 80-85887-55-6.
6. DOLEŽALOVÁ WEISSMANNOVÁ, H. a H. ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ. 2008. Ecotoxicological testing and test methods of chemicals. *Chemické listy*. 102(15): 1234 - 1245.
7. 184. Zákon o odpadech a o změně některých dalších zákonů. In: 184. Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Praha: Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Praha, 2014, částka 75, číslo 184.
8. ASSMUTH, T. a S. PENTTILÄ. 1995. Characteristics, determinants, and interpretations of acute lethality in daphnids exposed to complex waste leachates. *Aquatic Toxicology*. 31(1): 125-141.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

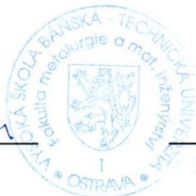
Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jiří Pavlovský, Ph.D.**

Datum zadání: 30.11.2015

Datum odevzdání: 22.04.2016



prof. Ing. Petr Praus, Ph.D.
vedoucí katedry



prof. Ing. Jana Dobrovská, CSc.
děkanka fakulty

Zásady pro vypracování diplomové práce

I.

Diplomovou prací (dále jen DP) se ověřují vědomosti a dovednosti, které student získal během studia, a jeho schopnosti využívat je při řešení teoretických i praktických problémů.

II.

Uspořádání diplomové práce:

- | | |
|--|------------------------------|
| 1. Titulní list | 6. Obsah DP |
| 2. Originál zadání DP | 7. Textová část DP |
| 3. Zásady pro vypracování DP | 8. Seznam použité literatury |
| 4. Prohlášení + místopřisežné prohlášení | 9. Přílohy |
| 5. Abstrakt + klíčová slova česky a anglicky | |

ad 1) Titulní list je koncipován podle požadavků příslušné oborové katedry.

ad 2) Originál zadání DP student obdrží na své oborové katedře.

ad 3) Tyto „Zásady pro vypracování diplomové práce“ následují za originálem zadání DP. („Zásady pro vypracování diplomové práce“ jsou ke stažení na webových stránkách fakulty).

ad 4) Prohlášení + místopřisežné prohlášení napsané na zvláštním listu (ke stažení na webových stránkách fakulty) a vlastnoručně podepsané studentem s uvedením data odevzdání DP. V případě, že DP vychází ze spolupráce s jinými právníky a fyzickými osobami a obsahuje citlivé údaje, je na zvláštním listě vloženo prohlášení spolupracující právníké nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP.

ad 5) Abstrakt a klíčová slova jsou uvedena na zvláštním listu česky a anglicky v rozsahu max. 1 strany pro obě jazykové verze.

ad 6) Obsah DP se uvádí na zvláštním listu. Zahrnuje názvy všech očíslovaných kapitol, podkapitol a statí textové části DP, odkaz na seznam příloh a seznam použité literatury, s uvedením příslušné stránky. Předpokládá se desetinné číslování.

ad 7) Textová část DP obvykle zahrnuje:

- Úvod, obsahující charakteristiku řešeného problému a cíle jeho řešení v souladu se zadáním DP;
- Vlastní rozpracování DP (včetně obrázků, tabulek, výpočtů) s dílčími závěry, vhodně členěné do kapitol a podkapitol podle povahy problému;
- Závěr, obsahující celkové hodnocení výsledků DP z hlediska stanoveného zadání.

DP bude zpracována v rozsahu min. cca 45 stran (včetně obsahu a seznamu použité literatury). V případě, kdy zadání DP vychází ze spolupráce se subjekty mimo VŠB -TU Ostrava a řešení studenta, týkající se citlivých dat spolupracujícího subjektu, je zpracováno v samostatné zprávě, tak zveřejněná část DP bude zpracována v rozsahu min. 25 stran a celkový rozsah DP bude min. 45 stran.

Text musí být napsán vhodným textovým editorem počítače po jedné straně bílého nelesklého papíru formátu A4 při respektování následující doporučené úpravy - písmo Times New Roman 12b; řádkování 1,5; okraje – horní, dolní – 2,5 cm, levý – 3 cm, pravý 2 cm, zarovnání do bloku. Fotografie, schémata, obrázky, tabulky musí být očíslovány a musí na ně být v textu poukázáno.

Budou zařazeny průběžně v textu, pouze je-li to nezbytně nutné, jako přílohy (viz ad 9). Odborná terminologie práce musí odpovídat platným normám. Všechny výpočty musí být přehledně uspořádány tak, aby každý odborník byl schopen přezkoušet jejich správnost. Matematické vzorce musí být číslovány (v kulatých závorkách). U vzorců, údajů a hodnot převzatých z odborné literatury nebo z praxe musí být uveden jejich pramen - u literatury citován číselným odkazem (v hranatých závorkách) na seznam použité literatury. Nedostatky ve způsobu vyjadřování, nedostatky gramatické, neopravené chyby v textu mohou snížit klasifikaci práce.

ad 8) DP bude obsahovat alespoň 15 literárních odkazů, z toho nejméně 5 v některém ze světových jazyků.

Seznam použité literatury se píše na zvláštním listě. **Citaci literatury je nutno uvádět důsledně v souladu s ČSN ISO 690.** Na práce uvedené v seznamu použité literatury musí být uveden odkaz v textu DP.

ad 9) Přílohy budou obsahovat jen ty části (speciální výpočty, zdrojové texty programů aj.), které nelze vhodně včlenit do vlastní textové části např. z důvodu ztráty srozumitelnosti.

III.

Diplomovou práci student odevzdá ve dvou knihařsky svázaných vyhotoveních, pokud katedra garantující studijní obor neurčí jiný počet. Vnější desky budou označeny takto:

nahoře: *Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava*
Fakulta metalurgie a materiálového inženýrství
Katedra

uprostřed: *DIPLOMOVÁ PRÁCE*

dole: *Rok* *Jméno a příjmení*

Kromě těchto dvou knihařsky svázaných výtisků odevzdá student kompletní DP také v elektronické formě do IS EDISON. Práce vložená v elektronické formě do IS EDISON se musí zcela shodovat s prací odevzdanou v tištěné formě. Po vložení DP do IS EDISON bude provedena její kontrola na plagiátorství.

IV.

Nesplnění výše uvedených zásad pro vypracování diplomové práce může být důvodem nepřijetí práce k obhajobě. O nepřijetí práce k obhajobě rozhoduje v tomto případě garant příslušného studijního oboru. Tyto zásady jsou závazné pro studenty všech studijních programů a forem navazujícího magisterského studia Fakulty metalurgie a materiálového inženýrství Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava od akademického roku 2015/2016.

Ostrava 2. 11. 2015


Prof. Ing. Jana Dobrovská, CSc.
děkanka Fakulty metalurgie a materiálového inženýrství
VŠB-TU Ostrava

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- jsem byl(a) seznámen(a) s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. – autorský zákon, zejména §35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního (§60 – školní dílo);
- beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB – TUO) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě diplomovou práci užít (§35 odst. 3);
- souhlasím s tím, že diplomová práce bude archivována v elektronické formě v databázi Ústřední knihovny VŠB – TUO a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o diplomové práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO;
- bylo sjednáno, že s VŠB – TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu §12 odst. 4 autorského zákona;
- bylo sjednáno, že užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že odevzdáním své diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (Zákon o vysokých školách) bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Místopřísežně prohlašuji, že jsem celou diplomovou práci vypracoval(a) samostatně.

V Ostravě 22. 4. 2016.

Anna Benková
podpis (jméno a příjmení studenta)

Rada by som poďakovala vedúcemu tejto diplomovej práce pánovi Ing. Jiřímu Pavlovskému, Ph.D. za odborný dohľad, čas a rady, ktoré mi venoval počas práce v laboratóriu a pri spracovaní tejto diplomovej práce.

Taktiež poďakovanie patrí pani doc. Ing. Šárce Langové, CSc. za odborný dohľad pri meraní obsahu kovov metódou AAS, taktiež pani doc. Mgr. Lucii Bartoňovej, Ph.D. za pomoc pri stanovení oxidov metódou XRFS a tiež pani Ing. Soni Študentovej za pomoc pri stanovení textúrnych parametrov. Moja vďaka tiež patrí fakulte bezpečnostného inžinýrství, katedre bezpečnosti práce a procesů, konkrétne Laboratoři vlivu na životní prostředí za poskytnutie prístroja a umožnenie merania zahasenia bioluminiscencie na *Vibrio fischeri*.

ABSTRAKT

Ľudská činnosť je sprevádzaná vznikom odpadov. So zvyšujúcim sa množstvom odpadov rastie tiež snaha o ich ekologickú likvidáciu, prípadne recykláciu a opätovné využitie. Aby bolo možné odpad znova využiť, je potrebné poznať potencionálne riziká, ktoré by mohol predstavovať pre ekosystém. Na poznanie potencionálnych rizík nestačia chemické analýzy. Pre posúdenie vplyvu na ekosystém sú využívané ekotoxikologické testy.

Táto diplomová práca je zameraná na stanovenie toxicity stavebného odpadu a ďalej trosky. Odpady boli charakterizované po chemickej stránke pomocou XRFS a boli určené textúrne parametre. Pripravené výluhy boli analyzované pomocou AAS. Najväčšia pozornosť však bola venovaná ekotoxikologickým testom. Na stanovenie semichronickej toxicity boli použité kontaktné testy na horčici bielej (*Sinapis alba* L.). Akútna toxicita bola stanovená na vodných organizmoch: žiabronôžka soľná (*Artemia salina*) a nitel'nica (*Tubifex tubifex*). Ďalej bol použitý test zahasenia bioluminiscencie morskej baktérie *Vibrio fischeri*. Hlavným sledovaným ukazovateľom pri týchto testoch bola efektívna koncentrácia EC50, vďaka ktorej bolo možné posúdiť toxicitu odpadov.

Kľúčové slová: stavebný odpad, troska, ekotoxicita, žiabronôžka soľná, horčica biela, baktéria *Vibrio fischeri*, nitel'nice.

ABSTRACT

A human activity is followed by generation of waste. With growing amount of waste there is also a growing effort for recycling, reutilization or ecological disposal of the waste. For reutilization of the waste, we need to assess potential risks which it can represent for the ecosystem. For evaluation of the impact on the ecosystem ecotoxicological tests are used as chemical analyzes are not sufficient measure.

This thesis is focused on determining the toxicity of construction waste and slag. The waste was characterized chemically by XRFS and its textural parameters were identified. Prepared extracts were analyzed by AAS method. However, the biggest attention was paid to ecotoxicological tests. Contact tests on white mustard (*Sinapis alba* L.) were used for determination of semichronic toxicity. Acute toxicity was determined on aquatic organisms brine shrimp (*Artemia salina*) and tubifex worms (*Tubifex tubifex*). Bioluminescence inhibition test was used on marine bacteria *Vibrio fischeri*. The main observed indicator in these tests was effective concentration EC50, which makes it possible to assess the waste toxicity.

Keywords: construction waste, slag, ecotoxicity, brine shrimp, white mustard, bacteria *Vibrio fischeri*, tubifex worms.

Obsah

1	Úvod	1
2	Ciele diplomovej práce	2
3	Teoretická časť	3
3.1	<i>Ekotoxikológia.....</i>	3
3.1.1	Ekotoxická toxicita	3
3.1.2	Ekotoxikologické testy	4
3.1.3	Rozdelenie biotestov	4
3.1.4	Akútna a chronická toxicita	5
3.1.5	Vyhodnotenie ekotoxikologických testov	6
3.1.6	Vybrané ekotoxikologické testy	6
3.2	<i>Odpady.....</i>	10
3.2.1	Stavebné odpady	11
3.2.2	Priemyselné odpady	12
3.3	<i>Ekotoxicita odpadov.....</i>	12
3.3.1	Postup stanovenia ekotoxicity odpadov	12
3.3.2	Metodiky ekotoxikologických testov a rešeršná časť	13
4	Praktická časť	17
4.1	<i>Vzorková základňa</i>	17
4.2	<i>Použité chemikálie a materiály.....</i>	17
4.3	<i>Použité prístroje, pomôcky a techniky na vyhodnotenie dát.....</i>	19
4.4	<i>Úprava vzoriek pred testovaním.....</i>	21
4.4.1	Príprava vodného výluhu	21
4.4.2	Stanovenie základných parametrov výluhu a úprava pH.....	22
4.5	<i>Chemické analýzy materiálov</i>	22
4.6	<i>Ekotoxikologické testy.....</i>	23

4.6.1	Test semichronickej toxicity na horčici bielej	23
4.6.2	Test akútnej toxicity na žiabronôžke soľnej	25
4.6.3	Test akútnej toxicity na nitel'niciach.....	26
4.6.4	Test zahasenia bioluminiscencie na Vibrio fischeri	27
5	Výsledky a diskusia.....	30
5.1	<i>Charakterizácia materiálov a vodných výluhov.....</i>	30
5.2	<i>Ekotoxikologické testy.....</i>	33
5.2.1	Semichronický test na horčici bielej	33
5.2.2	Akútny test toxicity na žiabronôžke soľnej	37
5.2.3	Akútny test na nitel'niciach	46
5.2.4	Test zahasenia bioluminiscencie Vibrio fischeri	47
6	Záver	55
7	Literatúra	57
8	Prílohy.....	61
9	Zoznam obrázkov	68
10	Zoznam tabuliek	69
11	Zoznam grafov	71

1 Úvod

Životné prostredie je do veľkej miery ovplyvňované ľudskou činnosťou. Akákoľvek výrobná, ale aj nevýrobná činnosť dnešnej spoločnosti je sprevádzaná vznikom odpadov. Odstraňovanie, prípadne recyklácia odpadov, je dôležité nielen z ekonomického hľadiska, ale tiež z hľadiska ochrany životného prostredia. Pri opätovnom využívaní odpadov je nutné poznať všetky potencionálne riziká, ktoré by mohol recyklovaný odpad predstavovať. Na posúdenie týchto rizík nestačí iba chemická analýza, ktorá nedokáže presne definovať vplyv látky na ekosystém. Toxickým vplyvom látok na životné prostredie sa zaoberá vedná disciplína – ekotoxikológia. Na ekotoxikologické testovanie sú využívané organizmy, ktoré reprezentujú jednotlivé zložky ekosystému.

V tejto práci bol testovaný stavebný odpad a troska. Vzorky boli najskôr charakterizované po chemickej stránke pomocou XRFS. Pripravené výluhy boli analyzované metódou AAS z pohľadu obsahu kovov. Hlavný dôraz bol však kladený na ekotoxikologické testy. Na hodnotenie toxického účinku stavebného odpadu a ďalej trosky bol použitý semichronický test na horčici bielej (*Sinapis alba* L.). Na stanovenie akútnej toxicity boli použité organizmy: žiabronôžka soľná (*Artemia salina*) a nitelnice (*Tubifex tubifex*). Ďalším použitým ekotoxikologickým testom bol test zahasenia bioluminiscencie na morskej baktérii *Vibrio fischeri*, ktorý je veľmi rýchly.

Výsledkom ekotoxikologických testov bolo stanovenie koncentrácie odpadu, ktorá je pre organizmy toxická. Pri semichronickom teste na horčici bielej bola stanovená inhibícia rastu koreňa rastliny. Pri akútnych testoch toxicity bola sledovaná mortalita jedincov. Test zahasenia bioluminiscencie na morských baktériách vyhodnocuje pomer úbytku svetelnej produkcie, ktorý je vzťahnutý na zvyšnú svetelnú produkciu, z čoho je vypočítaná hodnota EC50. Test na *Vibrio fischeri* dopĺňa testy o test na destruentoch. Zo sigmoidálnych závislostí boli určené aj hodnoty EC20 a EC80. Vďaka týmto výsledkom zo všetkých testov bolo možné posúdiť toxicitu odpadov.

Táto diplomová práca vznikla na Fakulte metalurgie a materiálového inženýrství při řešení projektu č. LO1203 “Regionální materiálově technologické výzkumné centrum - Program udržitelnosti“ financovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

2 Ciele diplomovej práce

Hlavným cieľom tejto práce bolo určiť ekotoxickosť stavebného odpadu. Na zistenie ekotoxickosti bol využitý semichronický test na horčici bielej a akútny test na žiabronôžke soľnej.

Ciele diplomovej práce boli tieto:

1. Literárny rešerš na stavebné odpady a zkoušené ekotoxické testy.
2. Provedení akutního testu ekotoxickosti na *Artemia salina* pro výluh stavebního odpadu.
3. Provedení semichronického testu ekotoxickosti na *Sinapis alba* L. pro výluh stavebního odpadu.
4. Základní chemická charakterizace stavebního odpadu.

Nad rámec tejto diplomovej práce boli prevedené aj testy zahasenia bioluminiscencie na morskej baktérii *Vibrio fischeri*, aby boli získané lepšie informácie o toxicite materiálu. Spomínané testy toxicity boli ešte navyše prevedené aj na vysokopecnej troske. Na troske bol tiež prevedený test akútnej toxicity na nitelnicach. Materiály boli skúmané nielen z toxikologického hľadiska, ale boli tiež charakterizované z chemickej stránky. Chemickou analýzou bolo určené zloženie pevného materiálu (XRFS), obsah kovov v pripravenom výluhu (AAS) a niektoré textúrne parametre pevnej vzorky.

3 Teoretická časť

3.1 Ekotoxikológia

Ekotoxikológia je mladá vedná disciplína, ktorá vznikla spojením ekológie a toxikológie [1]. Za samostatnú vedu je považovaná od 60. rokov 20. storočia. Cieľom ekotoxikológie je vyvíjať metódy, ktoré umožňujú charakterizovať vplyv látok na rastliny, živočíchy, baktérie a všeobecne na živé organizmy v životnom prostredí [2].

Ekotoxikologické práce môžu mať charakter retrospektívny, alebo prospektívny. Retrospektívne práce sa zameriavajú na štúdie reálnych ekosystémov, štúdie poškodenia prostredia spôsobené v minulosti a odhady budúceho vývoja na základe súčasného stavu, porovnávanie poškodeného a zdravého prostredia. Prospektívne práce sa zameriavajú na laboratórne štúdie účinku látok a zmesí, štúdie modelových ekosystémov a predpovedi účinkov na ekosystémy a ich jednotlivé zložky [3].

3.1.1 Ekotoxicitá

Za ekotoxikologický účinok sa považuje akákoľvek zmena v štruktúre a správaní biosystému spojená s pôsobením toxikantu v porovnaní s nulovou variantou – slepá vzorka, tj. stavom, ktorý by nastal bez pôsobenia toxikantu [4].

Ekotoxicitá látok je do veľkej miery ovplyvnená podmienkami prostredia, za akých dochádza k pôsobeniu látky na organizmus, resp. ekosystémy. Medzi základne faktory ovplyvňujúce ekotoxicitu patria:

- chemicko – fyzikálne vlastnosti látok, medzi ktoré patrí skupenstvo, rozpustnosť vo vode, alebo v tukoch, či ide o látku organickú, alebo anorganickú, ionizovanú, alebo neionizovanú,
- čas a spôsob expozície ovplyvňuje mieru prejavu toxického účinku, kontinuálna expozícia je väčšinou škodlivejšia ako okamžitá, krátkodobá expozícia,
- environmentálne faktory, medzi ktoré patrí teplota a vlhkosť prostredia, intenzita svetla,
- biologické faktory ovplyvňujú, či bude tá istá látka pôsobiť rovnako na rôzne jedince toho istého biologického druhu,

- faktory výživy do značnej miery môžu ovplyvniť ako veľmi bude organizmus odolný voči pôsobeniu toxickej látky,
- interakcie medzi toxikantmi je významným faktorom, ktorý ovplyvňuje výsledný toxikologický účinok a spoločné pôsobenie niektorých látok umocňuje výslednú toxicitu, ale môže nastať aj opačná situácia [5].

3.1.2 Ekotoxikologické testy

Za ekotoxikologický test sa považuje proces, pri ktorom je testovací organizmus, tkanivo, populácia exponovaná v presne definovaných podmienkach rôznymi koncentráciami skúmanej chemickej látky, alebo zmesovej, či prírodnej vzorky. Cieľom ekotoxikologických testov je pochopenie, charakterizácia a prípadne predpoveď účinkov v celých populáciách, spoločenstvách a ekosystémoch [6].

Testovanie toxických látok v životnom prostredí je značne problematické, keďže v súčasnosti žije na našej planéte viac ako 10^8 druhov. Nie je možné otestovať každú novú chemickú látku ani na aspoň jednom predstaviteľovi každého biologického rodu. Jedinou možnosťou v tejto oblasti je vyvinutie testov, ktoré sledujú účinky potencionálne toxických látok na živočíchy, alebo rastliny na jednotlivých trofických úrovniach [7]. Pri výbere testovacieho organizmu by mali byť zohľadnené: vhodnosť na laboratórne testovanie, citlivosť na toxické látky, časové obmedzenia, druhovú príslušnosť, ktorá vypovedá o možnosti aplikovať výsledky na širšie množstvo organizmov [8].

3.1.3 Rozdelenie biotestov

Ekotoxikologické biotesty sa dajú deliť podľa rôznych kritérií, pričom jeden test sa môže nachádzať vo viacerých skupinách súčasne.

Biotesty sa môžu členiť napríklad podľa týchto kritérií:

- podľa cieľového ekosystému: sladkovodný, morský, pôdny, sedimenty,
- podľa doby expozície: akútne, semiakútne, semichronické a chronické,
- podľa pokročilosti designu testovacieho systému:
 - testy 1. generácie – klasické testy s inaktívnymi organizmami,
 - testy 2. generácie – mikrobiotesty,

- testy 3. generácie biosenzory, biosondy a biomarkery,
- podľa trofickej úrovne testovacích organizmov: testy s producentami (rastliny, baktérie), konzumentami (bylinožravce, mäsožravce, všežravce) a destruentami (huby, bičíkovce, niektoré morské baktérie – *Vibrio fischeri*),
- podľa testovanej matrice: voda, pôda, vzduch, sediment, odpad, chemická látka,
- podľa počtu testovacích organizmov: jednodruhové a viacdruhové s prírodnými spoločenstvami, alebo laboratórnymi zmesami druhov,
- podľa zložitosti testovanej vzorky: čisté chemické látky, zmesi látok, prírodné vzorky,
- podľa spôsobu prípravy vzorky: definované koncentrácie chemických látok, testovanie výluhov, či extraktov, prírodných vzoriek, priame testy environmentálnych matric, ako je kontaminovaná pôda, sedimenty, odpadové vody [9,10],
- podľa stupňa komplexnosti detekčného systému – testovanie ma prebiehať od jednoduchších k zložitejším systémom, čiže od enzymatických skúšok, biosond, bunkových a tkanivových kultúr in vitro až po populácie, mikro/mezo kozmos a terénne experimenty,
- podľa sledovanej odpovede:
 - letálne efekty: mortalita, imobilizácia,
 - subletálne efekty: správanie organizmu, rýchlosť a smer pohybu,
 - fyziologická aktivita: fotosyntetická asimilácia, enzymatická aktivita, zmeny na membránach, prírastku dĺžky koreňa rastliny, počtu buniek v populácii, hmotnosti organizmu,
 - reprodukčné aktivity, malformácie, teratogenita [11].

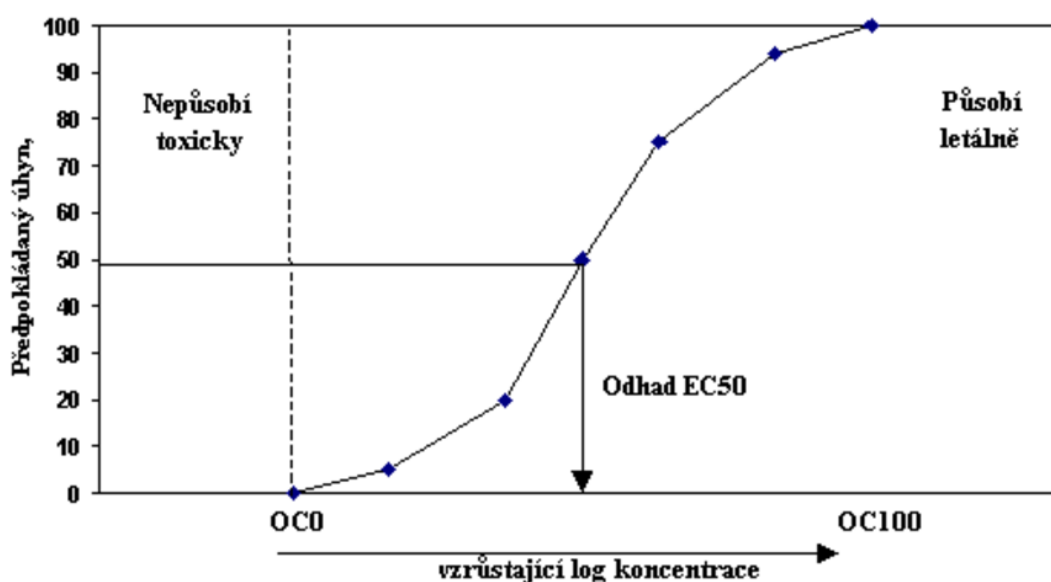
3.1.4 Akútna a chronická toxicita

Pri akútnej toxicite sa jedovatý účinok prejaví veľmi rýchlo, rádovo po niekoľkých hodinách. Pokiaľ ide o akútnu toxicitu je ovplyvnený priamo organizmus, ktorý jej bol vystavený. Pri chronickej toxicite sa účinok prejaví po týždňoch, až mesiacoch. Chronická toxicita sa prejavuje aj na ďalších vývojových generáciach, napr. problémy s plodnosťou, degenerácie na potomkoch [12].

3.1.5 Vyhodnotenie ekotoxikologických testov

Všeobecným princípom ekotoxikologických testov je stanovenie účinnej koncentrácie (EC50), odhad hodnoty EC50, ktorý je zobrazený na obrázku 1. Ďalším určovaným parametrom je letálna koncentrácia (LC), ktorá zodpovedá koncentrácii vzorky, pri ktorej došlo k 100% inhibícii [13].

Ďalšími ekotoxikologickými hodnotami, ktoré sú často stanovované sú NOEC a LOEC. NOEC (No Observed Effect Concentration) zodpovedá najnižšej testovanej koncentrácii pri ktorej už došlo k inhibičnému efektu. Parameter LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) zodpovedá najvyššej koncentrácii skúšanej koncentrácii vzorky u ktorej nedošlo k inhibičnému efektu [14,15,16].



Obr. 1: Odhad hodnoty EC50 [17].

3.1.6 Vybrané ekotoxikologické testy

Semichronický test na horčici bielej

Test semichronickej toxicity na horčici je zameraný na testovanie neškodnosti odpadových vôd, ktoré by mohli byť použité na zavlažovanie, testovanie pôd a látok, ktoré ich znečisťujú. Testuje sa vplyv odpadovej vody, prípadne vodného výluhu na klíčenie semien a rast koreňov horčice bielej v počiatočných štádiách vývoja. V testoch

ekotoxikity predstavuje horčica biela zástupcu kultúrnych plodín a vlastne všetkých rastlín, ktoré sa na poliach bežne pestujú (pšenica, kapusta).

Horčica biela, *Sinapis alba* L., patrí do čeľade brukvovitých, Brassicaceae. Je to jednoročná rastlina, skorá jarná rastlina – olejníka. V pôde je ukotvená tenkým vretenovitým koreňom. Lodyhu má vzpriamenú, chlpatú, môže byť až 150 cm vysoká s listami jasne zelenej farby. Plody tvoria šesule. Kvety rastliny sú opeľované hmyzom. Semeno rastliny je žlté, alebo bielo – žlté guľovitého tvaru. Semená dosahujú priemeru 1,5 – 4 mm. Po vyklíčení vyrastá jednoduchý koreň s hypokotylom (kvetom) [17,18]. Rozkvitnutá rastlina a rastlina s koreňom sú zobrazené na obrázku 2.



Obr. 2: Rozkvitnutá rastlina horčice bielej a dĺžka koreňa rastliny [19,20].

Semichronický test na horčici bielej prebieha po dobu 72 hod. bez osvetlenia. Ako kultivačné médium sa používa riediaci roztok, ktorý vzniká zmiešaním 5 ml z každého zásobného roztoku do 1 litrovej odmernej banky a doplnením demineralizovanou vodou. Hodnota pH kultivačného média by sa mala pohybovať v rozmedzí 7,6-8, preto je dobré pripraviť ho deň vopred, aby sa pH ustálilo [21]. Po 72 hodinách sa presne zmeria dĺžka koreňa každej rastliny u jednotlivých použitých koncentrácií, vrátane nulovej koncentrácie (kontrola). Výsledkom testu je inhibícia, ktorá sa vypočíta podľa rovnice 1:

$$I_{\mu} = \frac{(L_c - L_v) \cdot 100}{L_c}, \quad (1)$$

kde I_{μ} je inhibícia rastu koreňa v %, L_c je aritmetický priemer dĺžky koreňa v kontrole v mm, L_v aritmetický priemer dĺžky koreňa v testovanom roztoku v mm [22].

Akútny test toxicity na žiabronôžkach

Vajíčka žiabronôžky soľnej sú dovážané takmer výhradne z USA. Vajíčka sú zbierané vo veľkom soľnom jazere v Utahu. Hoci ide o organizmus žijúci v slaných vodách, nachádzajú sa iba v jazerách, nie v moriach. Výhodou testu sú homogénne vlastnosti vajíčok a teda aj čerstvo narodených jedincov [23].

Rad žiabronôžiek patrí do podtriedy lupeňonožcov, Phyllopoda. Majú mäkké, pretiahnuté telo bez schránky zložené z článkov. Zo základného článku často vyrastajú rôzne charakteristické výrastky. Na hlave sa nachádzajú nečlánkované nitkovité tykadlá prvého páru a mohutné tykadlá druhého páru. Na prednom okraji hlavy medzi tykadlami niekedy vyrastá nepárový čelný výrastok. Na spodnej strane hlavy je ústne ústrojenstvo. Na čele je jedno nepárové naupliové očko, na bokoch hlavy sa nachádzajú veľké, stopkové zložené oči. Hruď sa skladá z jedenástich článkov, z ktorých každý nesie pár listových končatín. Zadoček sa skladá z deviatich článkov, pričom prvé dva sú zrastené a nesú pohlavné orgány [24,25]. Larva žiabronôžky soľnej je zobrazená na obrázku 3.



Obr. 3: Larvy žiabronôžiek soľných – *Artemia salina* [26].

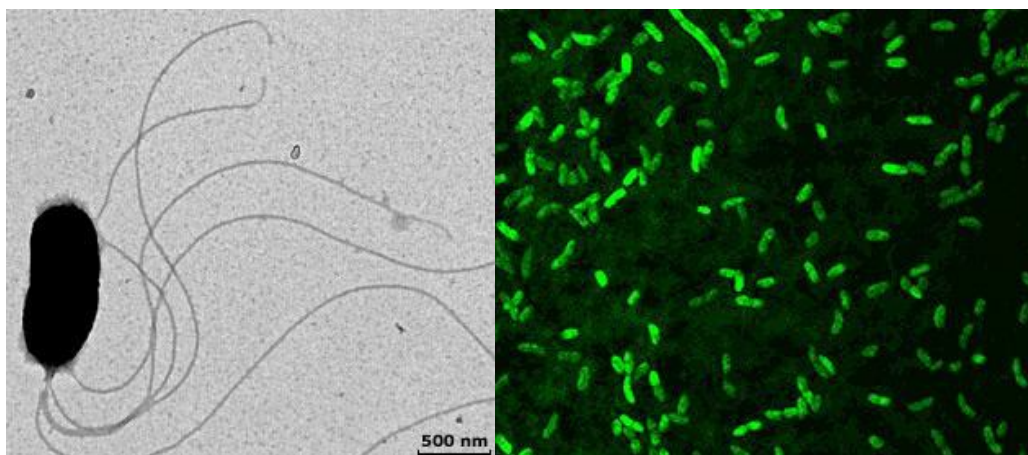
Obvykle sa vajíčka liahnu do laboratórnej morskej vody o salinite 1,2-3 % NaCl. Vodu je vhodné udržiavať v miernom pohybe, čo sa najlepšie docieli prevzdušňovaním slabým prúdom vzduchu (akvaristickým prebublávatkom). Liahnivosť cýst sa obvykle blíži ku 100 %. Pri optimálnej teplote, teda 27-29 °C, dochádza k vyliahnutiu približne do 18 hodín. Znížením teploty nedochádza ku zmene citlivosti nauplií, ale k predĺženiu času liahnutia [25]. Test prebieha pri teplote 24-26 °C po dobu 24 až 48 hodín. Po uplynutí tejto doby sa sleduje mortalita, ktorá sa vypočíta podľa rovnice 2:

$$Mm_{ct} = \frac{N_{Mm}}{N_0} \cdot 100, \quad (2)$$

kde Mm_{ct} je mortalita jedincov v čase, N_{Mm} je priemerný počet uhynutých jedincov a N_0 je celkový počet živých jedincov vložených do každej koncentrácie [27].

Test zahasenia bioluminiscencie na baktérii *Vibrio fischeri*

Test zahasenia bioluminiscencie baktérie *Vibrio fischeri* je metóda na stanovenie toxického účinku látok na fotoaktívne baktérie. Podstatou testu je porovnanie bioluminiscencie baktérie pred a po expozícii toxickou látkou. Na testovanie sa používa morská baktéria *Vibrio fischeri* zobrazená na obrázku 4. Inhibícia emisie svetelného žiarenia sa stanovuje u baktérií vystavených vhodne zvolenej koncentračnej rade toxikantu [28,29]. Podstatou reakcie, pri ktorej dochádza k emisii svetla je oxidácia luciferínu na neaktívny oxyluciferin. Katalyzátorom reakcie je enzým luciferáza a množstvo ATP. Podmienkou, aby táto reakcia prebiehala je prítomnosť kyslíka. Viditeľným produktom tejto reakcie je svetlo [9].



Obr. 4: Baktéria *Vibrio fischeri* [30].

Sledovaným javom je zníženie luminiscencie týchto baktérií, ktoré sa meria špeciálnym prístrojom, tzv. luminometrom, po dobe expozície 5, 15 a 30 minút. Zo zmeranej intenzity luminiscencie sa podľa rovnice 3 vypočíta korekčný faktor, ktorý upravuje referenčné hodnoty, ktoré sú ovplyvnené riediacim roztokom a prirodzeným úbytkom luminiscencie:

$$f_t = \frac{I_{kt}}{I_{k0}} \text{ (kde } t = 5, 15, 30 \text{ min.)}, \quad (3)$$

kde f_t je korekčný faktor po expozícií 5, 15 a 30 minút, I_{kt} je intenzita luminiscencie kontroly po expozícií, I_{k0} intenzita luminiscencie kontroly bezprostredne pred pridaním riediaceho roztoku (2% roztok NaCl).

Z hodnôt f_t sa vypočíta priemer dvoch paralelných stanovení. Podľa rovnice 4 sa vypočíta I_{ct} korigovaná hodnota:

$$I_{ct} = I_0 \cdot \bar{f}_t, \quad (4)$$

kde \bar{f}_t je priemer hodnôt, I_0 je intenzita luminiscencie bezprostredne pred pridaním riediaceho roztoku pre kyvety so skúšobnou vzorkou.

Inhibičný účinok skúšanej vzorky sa vypočíta podľa rovnice 5:

$$H_t = \frac{I_{ct} - I_t}{I_{ct}} \cdot 100, \quad (5)$$

kde H_t je inhibičný účinok vzorky po expozícii t minút v %, I_t je intenzita luminiscencie skúšanej vzorky po expozícii t minút.

Hodnota gama testovanej vzorky sa vypočíta podľa rovnice 6:

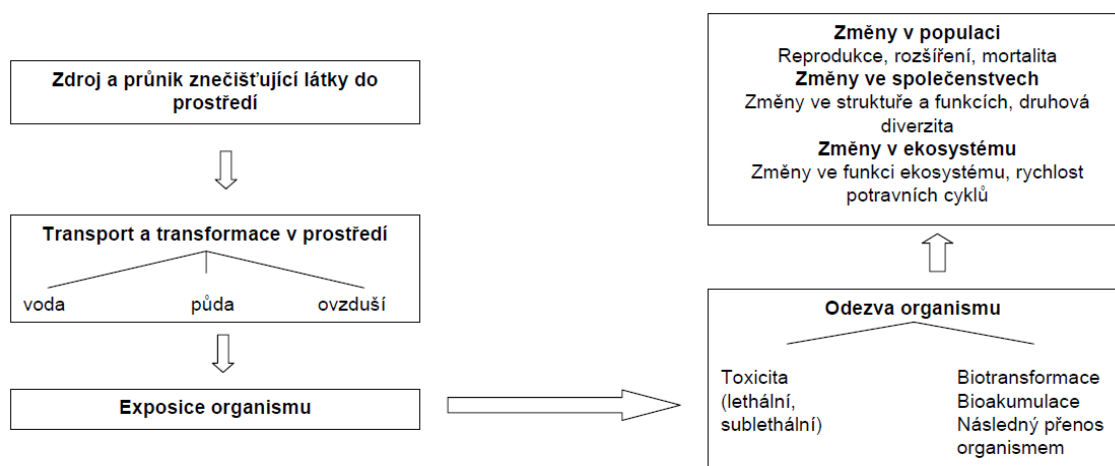
$$\Gamma_t = \frac{\bar{H}_t}{100 - \bar{H}_t}, \quad (6)$$

kde Γ_t je hodnota gama testovanej vzorky po expozícií 15, alebo 30 minút, \bar{H}_t je priemerný inhibičný účinok testovanej vzorky v %.

Výsledkom je potom kalibračná závislosť $\log \Gamma$ na $\log c$, pričom dosadením 1 za Γ , získame hodnotu EC50 [28,31].

3.2 Odpady

Do životného prostredia sa dostáva, alebo uvoľňuje veľké množstvo rôznych znečisťujúcich látok. V menšej miere to môžu byť produkty prirodzených procesov, ale vo väčšine prípadov ide o látky, ktoré pochádzajú z oblasti ľudskej činnosti. Na obrázku 5 je znázornené pôsobenie znečisťujúcich látok na jednotlivé zložky a funkcie ekosystému [32].



Obr. 5: Schéma znázorňujúca vznik a pôsobenie látok v životnom prostredí [32].

Väčšinu látok znečisťujúcich životné prostredie tvoria odpady. Zákon o odpadoch Ministerstva vnútra ČR definuje odpad ako všetky hmotné veci, ktorých sa osoba zbavuje, alebo má povinnosť zbaviť sa ich [29]. Za nebezpečný odpad je považovaný odpad, ktorý vykazuje jednu, alebo viac nebezpečných vlastností uvedených v nariadení Európskej únie o nebezpečných vlastnostiach odpadov. Ministerstvo životného prostredia zákonom č. 381/2001 Sb. stanovuje Katalóg odpadov. Podľa tohto katalógu sa delia odpady do 20 kategórií. Tento zákon tiež stanovuje zoznam nebezpečných odpadov [33,34].

3.2.1 Stavebné odpady

Jednou z hlavných kategórií, ktoré sa nachádzajú v zákone č. 381/2001 Sb sú stavebné a demolačné odpady. Tieto odpady vznikajú pri rôznych stavebných činnostiach, údržbe a rekonštrukcii stavieb, pri rôznych stavebných úpravách dokončených stavieb a odstraňovaní stavieb. Viac ako polovicu z celkovej produkcie odpadov v ČR tvoria práve stavebné a demolačné odpady. Tieto odpady sú však takmer z 98 % znova využívané [35].

3.2.2 Priemyselné odpady

Okrem stavebných odpadov nachádzajú nové uplatnenie v stavebníctve aj odpady produkované v energetike, hutníctve a chemickom priemysle. Medzi tieto odpady patria aj trosky, čo sú pevné nekovové odpady hutnej výroby, ktoré vznikajú reakciou sprievodných zložiek kovonosnej zliatiny v rude so troskotvornou prísadou (CaO) [36]. Táto diplomová práca sa venuje toxicite stavebných odpadov a trosky.

3.3 Ekotoxicita odpadov

V Európe sú nebezpečné odpady charakterizované podľa 14 kritérií. Patrí medzi ne aj ekotoxicita, ktorá je označovaná kódom H14 [34]. Túto nebezpečnú vlastnosť majú odpady, ktoré predstavujú, alebo môžu predstavovať akútne, alebo neskoršie nebezpečenstvo pre jednu, prípadne viac zložiek životného prostredia [37].

3.3.1 Postup stanovenia ekotoxicity odpadov

Ekotoxikologické biotesty sú spolu s chemickými analýzami hlavnými piliermi ekotoxikologických detekčných systémov pre výluhy odpadov. Ponúkajú možnosť priameho posúdenia nepriaznivých účinkov na životné prostredie, bez ohľadu na zloženie a charakter testovaného odpadu a ich význam spočíva predovšetkým v identifikácii a hodnotení rizika, najmä z hľadiska vstupu kontaminantov do pôdy. Najväčšie zdroje variability v hodnotení a interpretácii výluhov odpadov predstavuje výber metódy vyluhovateľnosti a vhodného detekčného systému [38,39].

Legislatíva Českej republiky zavádza pojem ekotoxicita napríklad pre oblasť odpadov. Legislatívna ekotoxicita je stanovovaná na základe súboru výsledkov testovania toxicity vodných výluhov. V Českej republike sú doporučené štyri konvenčné testy identické s európskymi ISO normami:

- ČSN EN ISO 6341 Jakost vod – Zkouška inhibice pohyblivosti *Daphnia magna* Straus (*Cladocera*, *Crustacea*) – Zkouška akutní toxicity [40,41],
- ČSN EN ISO 28692 Jakost vod – Zkouška inhibice růstu sladkovodních řas *Desmodesmus subspicatus* a *Pseudokirchneriella subcapitata* (ISO 8692; 1989) [42,43],

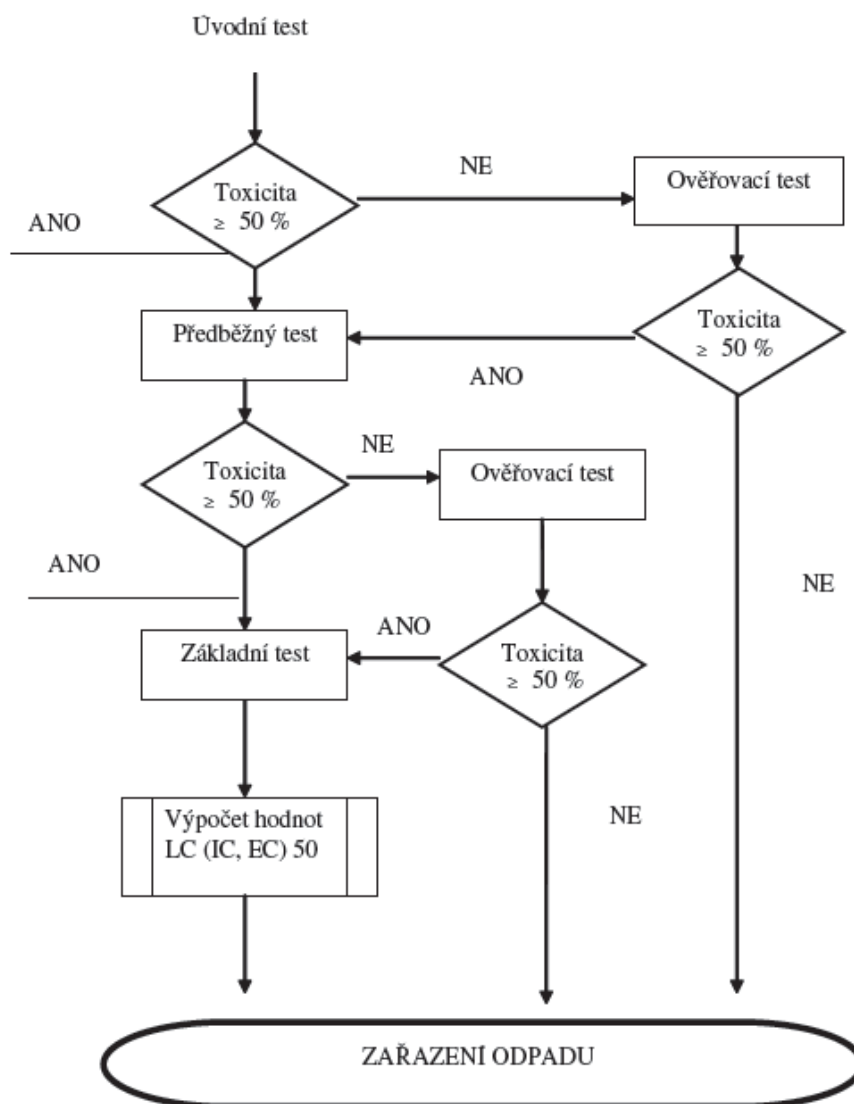
- ČSN EN ISO 7346-2 Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] – část 2: Obnovovací metoda [44,45],
- Test inhibice růstu kořene hořčice bílé (*Sinapis alba* L.). Metodický pokyn Ministerstva životního prostředí ke stanovení ekotoxicity odpadů [46,47,62].

Pokiaľ výsledky týchto štyroch testov nepreukážu toxické účinky, je testovaná látka hodnotená ako negatívna vo vlastnosti ekotoxicita. Legislatívna ekotoxicita nepostihuje všetky toxické účinky na životné prostredie. Ide o úzky súbor štyroch testov, ktoré sú vhodné predovšetkým pre testovanie toxicity látok rozpustných vo vode [46,48].

Ekotoxikologickým testom je podrobovaný vodný výluh z odpadu (testovaný roztok). Testované organizmy pomocou ktorých sú vykonávané ekotoxikologické skúšky reprezentujú dôležité články ekosystému s možnou rozdielnou citlivosťou na rôzne látky obsiahnuté v odpadoch. Pre stanovenie ekotoxicity su rozhodujúce výsledky testu najcitlivejšie reagujúceho organizmu [49,50].

3.3.2 Metodiky ekotoxikologických testov a rešeršná časť

Testy ekotoxicity vodného výluhu (testovacieho roztoku) sa na všetkých testovacích organizmoch prevádzajú postupne, ako je znázornené na obrázku 6.



Obr. 6: Postupový diagram testov hodnotenia nebezpečnej vlastnosti H14 Ekotoxická [49].

Vodný výluh sa pripraví 24 hodinovým trepaním navážky vzorky v objeme destilovanej vody, ktorých pomer kvapalná/pevná fáza L/S je 10/1. Po 24 hodinách $\pm 0,5$ hodiny sa výluh prefiltruje cez filter o veľkosti 0,5 μm . Následne je po prípadnej úprave pH podrobený zvoleným testom toxicity, alebo uskladnený v chlade, pri teplote 4-6 $^{\circ}\text{C}$. Pripravený výluh je vhodné použiť do 72 hodín od prípravy [37].

Ekotoxická stavebných a priemyselných odpadov bola v minulosti skúmaná. Postupy, prípadne výsledky niektorých štúdií, zameraných na podobné materiály a organizmy ako boli použité v tejto práci sú popísané nižšie.

Wilke a kol. (2008) [51] skúmali ekotoxicitu odpadov. V štúdiu boli skúmané predovšetkým priemyselne odpady ako troska, kal a benzínový odpad. Troska obsahovala zvyšky spaľovaných odpadov a tiež zvyšky ťažkých kovov, chloridy, sírany a organické zvyšky. Troska bola pomletá a homogenizovaná, aby výsledná veľkosť častíc bola menšia ako 4 mm. Boli určené základné charakteristiky materiálov ako pH a obsah sušiny. U trosky tvorila hmotnosť sušiny až 99,1 % pôvodnej hmotnosti a pH bolo rovne 6,2. Na ekotoxikologickú charakterizáciu materiálov boli vybrané organizmy, ktoré charakterizujú zloženie ekosystému. Ako zástupca vyšších rastlín bola zvolená kapusta poľná (*Brassica rapa*). Zástupcom obrúčkocvov bola zvolená dáždovka hnojná (*Eisenia fetida*). Ďalším zástupcom živočíchov bol chvostoskok (*Folsomia candida*). Na test zahasenia bioluminiscencie bola využitá baktéria *Vibrio fischeri*. Súbor týchto testov umožnil klasifikovať skúmané odpady ako ekotoxikologicky nevýznamné.

Baderna a kol. (2015) [52] skúmali odpad, ktorý vzniká pri vŕtaní a stavbe tunelov. Tento odpad býva spracovaný a upravený na stavebný materiál, preto je potrebné charakterizovať materiál z chemického aj ekotoxikologického hľadiska. Táto štúdia navrhuje integrovaný prístup k hodnoteniu rizík pre životné prostredie. Postup zahŕňa chemickú charakteristiku materiálu pomocou hmotnostnej spektroskopie s vysokým rozlíšením. Na stanovenie akútnej toxicity pre vodné prostredie bola využitá *Daphnia magna*. Bol volený počet jedincov 20 a bola sledovaná imobilizácia po 48 hodinách. Testované koncentrácie boli zvolené od 10 do 150 mg/l. Na akútny test fyto toxicity boli volené semená uhorky (*Cucumis sativus*) a žeruchy (*Lepidium sativum*). Semená boli nasadzované do Petriho misiek na navlhčený filtračný papier vždy po 10 kusov. Test trval 72 hodín a po tejto dobe bolo merané predĺženie koreňov. Výsledky tejto štúdie nevykazujú žiadne významné riziko pre rastliny a bezstavovcov.

Geochemickým a ekotoxikologickým hodnotením trosky pre potencionálne použitie v aplikáciách životného prostredia sa zaoberá štúdia Wedinga a kol. (2013) [53]. Súčasťou štúdie bolo chemické hodnotenie materiálu a vylúhovanie, ktoré bolo nutné pre ekotoxikologické testy. Toxicita trosky bola hodnotená pomocou mikroskopických rias (*Chlorella sp.*), perloočiek (*Ceriodaphnia dubia*) a baktérie (*Vibrio fischeri*). Troska vykazovala 50% účinnú koncentráciu EC50 63-85%.

Flohr a kol. (2012) [54] sa zaoberali testovaním priemyselných odpadov produkujúcich výluhy, ktoré môžu kontaminovať ekosystém. Na posúdenie rizika rozpustných frakcií týchto odpadov pre životné prostredie nestačí len chemická analýza, ktorá nemusí dostatočne klasifikovať nebezpečenstvo priemyselného odpadu. Pre lepšie posúdenie boli pridané testy akútnej a chronickej toxicity. Ako testovacie organizmy boli zvolené *Daphnia magna* a *Vibrio fischeri*. Najvyššia úroveň toxicity pre dafnie EC50 po 48 hodinách bola 2,21 %. Pre baktériu bola najvyššia zistená toxicita EC50 po 30 minútach bola 12,08 % . Výsledky tejto štúdie ukazujú značnú variabilitu medzi toxicitou jednotlivých druhov odpadov, ale tiež medzi toxicitou vzoriek toho istého odpadu, preto nemožno jednoznačne informovať o toxickom charaktere odpadov.

Hong a kol. (2011) [55] skúmali vo svojej práci vplyv kalov, ktoré sa používajú ako surovina pre výrobu cementu, na životné prostredie. Boli prevedené kontaktné ekotoxikologické testy a bolo preukázané, že kaly nepredstavujú žiadne významné riziko pre životné prostredie. Využitie pri výrobe cementu je dobrou voľbou pre odľahčenie tlaku na životné prostredie v dôsledku zvýšenej likvidácie kalov.

Popolček patrí medzi priemyselné odpady, ktorý je vo veľkej miere znovu využívaný v stavebníctve, pri stavbe ciest a iných objektov. Aby bolo možné takéto využitie popolčeka, je nutné preskúmať jeho vplyv na životné prostredie z dlhodobého hľadiska. Týmto problémom sa zaoberali Stiernström a kol. (2014) [56]. Boli testované výluhy pomocou chronických testov ekotoxicity (*N. Spinipes*). Bol tiež použitý test inhibície rastu sladkovodnej riasy (*P. Subcapitata*) a tiež test zahasenia bioluminiscencie na *Vibrio fischeri*. Boli identifikované potencionálne nebezpečné prvky. Výsledky tejto štúdie ukazujú, že tento odpad vykazuje veľmi nízku ekotoxicitu a nepredstavuje žiadne riziko pre životné prostredie ani z dlhodobého hľadiska.

Sadra je súčasťou stavebných a demolačných odpadov, ktorá sa často opätovne využíva v stavebníctve. Recyklácia odpadovej sadry napomáha k zachovaniu prírodných ložísk sadrovca. Štúdia Godinho-Castra (2012) [57] skúma dopady tohto odpadu na životné prostredie a možné riziká jeho využívania. Boli skúmané fyzikálne a chemické vlastnosti materiálu a tiež boli prevedené ekotoxikologické testy. Výluh bol slabo toxický pre dafnie a baktérie, avšak u rýb a rias výluh toxicitu nevykazoval. Testy na dafniach a baktériách boli posúdené ako citlivejšie než testy na rybách a riasach.

4 Praktická časť

Na chemické analýzy a ekotoxikologické testy boli použité chemikálie, prístroje a postupy, ktoré sú popísané v kapitolách nižšie. Všetky experimenty boli prevedené pri laboratórnom tlaku a teplote okrem akútnych testoch na žiabronôžkach, pri ktorom bola teplota zvýšená osvetlením lampou.

4.1 Vzorková základňa

Chemické analýzy a ekotoxikologické testy boli prevedené na týchto materiáloch:

- odpad z opravy trafostanice (Ostrava, Dolní Vítkovice, odber 13.1.2016),
- vysokopecná troska Kotouč (Štramberk, odber 30.3.2015).

4.2 Použité chemikálie a materiály

V tejto kapitole sú uvedené všetky chemikálie a materiály, ktoré boli pri testoch robených v rámci tejto diplomovej práce použité.

Chemikálie použité na chemické analýzy, ktorými boli charakterizované materiály:

- vodné výluhy pre stanovenie kovov pomocou AAS boli stabilizované kyselinou dusičnou 65% o hustote $1,4 \text{ g/cm}^3$ (5 ml na 1 liter roztoku vodného výluhu), čistota p.a., firma Merci, s.r.o.,
- pri analýze výluhov vzoriek metódou AAS boli na prípravu štandardov použité kalibračné roztoky od firmy Astasol o koncentrácií Mg, Na, K, Zn, Cd, Pb rovným ($1 \pm 0,005$) g/l. Na prípravu štandardu pre stanovenie vápnika bol použitý kalibračný roztok Českého metrologického inštitútu o koncentrácií Ca ($1 \pm 0,002$) g/l.

Chemikálie a materiály použité na semichronické testy toxicity boli:

- semená horčice bielej (*Sinapis alba* L.), záhradkárske potreby, výrobca AROS – osiva s.r.o., Praha (ČR),

- na prípravu štandardného roztoku bol použitý dichroman draselný, p.a., firma Merci Ostrava s.r.o., roztok o koncentracii 1 g/l,
- zried'ovací roztok pre semichronický test na horčici boli použité zásobné roztoky o zložení zobrazenom v tabuľke 1,
- na úpravu pH výluhov na semichronický test na horčici bola použitá HCl a NaOH o čistote p.a., firma Merci s.r.o., o koncentracii 0,1 a 1 mol/l.

Tab. 1: Zásobné roztoky pre semichronické testy na horčici bielej [20].

zásobný roztok	chemikália	koncentrácia v zásobnom roztoku (g/l)
ZR 1	CaCl ₂ · 2H ₂ O	117,6
ZR 2	MgSO ₄ · 7H ₂ O	49,3
ZR 3	NaHCO ₃	25,9
ZR 4	KCl	2,3

Zásobné roztoky boli pripravené do 1 litrových odmerných baniek navážením príslušných hmotností solí a doplnením týchto odmerných baniek po rysku demineralizovanou vodou. Zried'ovací roztok bol následne pripravený odpipetovaním 5 ml z každého zásobného roztoku do litrovej odmernej banky, tá bola doplnená po rysku demineralizovanou vodou a premiešaná. Zried'ovací roztok bol pripravený vždy minimálne 2 dni pred samostatným testom, aby došlo k ustáleniu pH roztoku [20].

Chemikálie a materiály použité na akútne testy toxicity boli tieto:

- nitel'nice kúpene v akvaristickom obchode Macík, obchodné centrum Assen, Ostrava,
- na prípravu štandardného roztoku pre test na nitel'niciach bol použitý MnCl₂ · 2H₂O, čistota p.a., firma Merci Ostrava s.r.o., koncentracia 50 mg/l,
- larvy žiabronôžiek soľných (*Artemia salina*) na liahnutie, EasyFish, Kostelec, ČR,
- na prípravu štandardného roztoku pre test na žiabronôžke soľnej bol použitý dichroman draselný, p.a., firma Merci Ostrava s.r.o., roztok o koncentracii 1 g/l,
- laboratórna morská voda pre akútne testy toxicity na žiabronôžke soľnej bola pripravená podľa tabuľky 2,
- na úpravu pH výluhov na akútny test na žiabronôžke bola použitá HCl a NaOH o čistote p.a., firma Merci s.r.o., o koncentracii 1 mol/l.

Tab. 2: Zloženie laboratórnej morskej vody [58].

	chemikália	koncentrácia v zásobnom roztoku (g/l)
kryštalické soli	NaCl	23,96
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	10,346
ZR 1	MgCl ₂ · 6 H ₂ O	32,5
	NaBr	5,145
	KCl	2,98
	CaCl ₂	2,998
ZR 2	NaHCO ₃	2,01
	SrCl ₂ · 6H ₂ O	0,27
	H ₃ BO ₃	0,06
	NaF	0,042

Zásobné roztoky (ZR) boli pripravené do litrových odmerných baniek navážením príslušných hmotností solí, doplnením demineralizovanou vodou a premiešaním. Laboratórna morská voda bola následne pripravená navážením kryštalických solí, ich kvantitatívnym prevedením do litrovej odmernej banky a rozpustením v cca 200 ml demineralizovanej vody. Ďalej boli pridané 20 ml ZR 1 a 10 ml ZR 2 a odmerná banka bola doplnená demineralizovanou vodou. Takto bola pripravená laboratórna morská voda na akútne testy toxicity na žiabronôžke soľnej, opäť 1-2 dni pred samotným testom, aby sa ustálila hodnota pH [58].

Chemikálie a materiály použité na test zahasenia biolumiscencie boli:

- na riedenie bol použitý 2% roztok NaCl nariedený demineralizovanou vodou,
- luminiscenčné baktérie LCK 480 dodávané firmou Lange, Nemecko, dodané v suchom ľade a uschované pri teplote minimálne -18 °C vrátane reaktivačného roztoku k baktériám

4.3 Použité prístroje, pomôcky a techniky na vyhodnotenie dát

Na úpravu vzoriek, chemické analýzy a ekotoxikologické testy boli použité tieto prístroje:

- na pomletie pevných vzoriek bol použitý poloprevádzkový bubnový mlyn - omieľací bubon OM 20, BRIO Hranice, ČR,
- pre stanovenie sušiny a prípravu výluhov boli vzorky vysušene v sušiarňi BMT Ecocell standard, MMM Group (Nemecko) pri $(105 \pm 5)^\circ\text{C}$, 2 hod.,
- vzorky na prípravu výluhov, stanovenie sušiny a na kontaktné testy boli navažované na analytických váhach KERN 770 (Nemecko) s presnosťou na $\pm 0,1\text{ mg}$,
- na prípravu demineralizovanej vody, ktorá bola použitá na prípravu výluhov, riediaceho roztoku a laboratórnej morskej vody bolo použité zariadenie Aqual[®] 25 (ČR) s reverznou osmózou,
- vodné výluhy boli pretrepávané na laboratórnej trepačke Multi – Shaker PSU 20, Biosan (Nemecko), štýlom „hlava – päta“. Vodné výluhy boli pretrepávané $(24 \pm 0,5)$ hodiny,
- pri meraní a úprave pH bol použitý pH - meter WTW Multi 3420 SET C, Weilheim – Nemecko s trojbodovou kalibráciou na WTW pufrý o pH 4,01; 7 a 10 s elektrodou SenTix 940[®],
- na meranie konduktivity bol použitý WTW Multi 3420 SET C, Weilheim – Nemecko s vodivostnou elektródou TetraCon 925[®] s kontrolou na štandard – $0,01\text{ mol/l KCl}$,
- na stanovenie alkálií (Na, K, Ca, Mg) a stanovenie vybraných ťažkých kovov (Cd, Zn, Pb) bol použitý prístroj AA280FS Varian (Austrália) s plameňovou ionizáciou,
- vodné výluhy odpadov boli prefiltrované pomocou filtračného zariadenia Sartorius cez filtre o priemere pórov $0,6\text{ }\mu\text{m}$ Pragopor, Prachem, Pragochema spol. s.r.o., ČR,
- meranie luminiscencie bolo prevedené na luminometri LUMISTox 300 od firmy Dr. Lange, Nemecko,
- pri testoch na baktériách bola použitá temperačná jednotka LUMISTherm od firmy Dr. Lange, temperovaná na $(15 \pm 0,1)^\circ\text{C}$
- na vyhodnotenie ekotoxikologických testov bol použitý software Origin, verzia 6.1, firmy OriginLab[®],
- ďalšie použité pomôcky: bežné laboratórne sklo (odmerné banky, kadičky, odmerné valce, atd), alobal, filtračný papier, pravítko na meranie dĺžky koreňov

horčice, lyžičky, váženky, parafilm, nožnice, ortuťový teplomer, chladnička, Petriho misky, sklenené tyčinky, kvapkadlá, hodinové sklíčka, lampa, akvaristické prebublávadlo, sito s veľkosťou ok menších ako 1 mm.

4.4 Úprava vzoriek pred testovaním

Vzorka stavebného odpadu bola kusovitého charakteru, nachádzali sa v nej celé tehly a kusy betónu. Tieto vzorky bolo nutné upraviť. Vzorky boli pomleté a homogenizované, nakoniec boli preosiate cez sito s veľkosťou ok menšou ako 1 mm a laboratórna vzorka bola pripravená pomocou kvartácie (4x1 kg).

4.4.1 Príprava vodného výluhu

Ekotoxikologické testy boli robené na vodných výluhoch stavebného odpadu a trosky. Tieto výluhy boli pripravené podľa normy ČSN EN 12457-4 [59], ktorá popisuje vyluhovanie zrnitých odpadov a kalov. Pred samotnou prípravou vodného výluhu bol stanovený obsah sušiny podľa normy ISO 11465 [60]. Sušina bola stanovená pri teplote $(105 \pm 5) ^\circ\text{C}$. Podiel sušiny bol vypočítaný podľa vzťahu 7:

$$DR = 100 \cdot M_D/M_W, \quad (7)$$

kde DR je podiel sušiny v %, M_D je hmotnosť vysušenej analytickej vzorky v kg a M_W je navážka nevysušenej analytickej vzorky v kg.

Ďalej bola vypočítaná vlhkosť podľa rovnice 8:

$$MC = 100 \cdot (M_W - M_D)/M_W, \quad (8)$$

kde MC je vlhkosť v %, M_D je hmotnosť vysušenej analytickej vzorky v kg a M_W je navážka nevysušenej analytickej vzorky v kg.

Na stanovenie obsahu sušiny a vypočítanie vlhkosti boli vysušené vždy dve navážky z každej vzorky (paralelné stanovenie).

Vodný výluh obsahoval pomer pevnej fázy ku kvapalnej 1/10. Vodný výluh bol pripravovaný do 100 (250) ml tmavých sklenených fliaš obalených v alobale. Z pevnej vzorky presušeneho odpadu (pri $110 ^\circ\text{C}$) bolo navážené 10 (25) g. Demineralizová voda 100 (250) ml bola odmeraná pomocou odmerného valca. Výluh bol trepaný na trepačke

($24 \pm 0,5$) hod („hlava – päta“). Po ukončení pretrepávania boli vzorky prefiltrované. Boli pripravené vždy 2 výluhy, ktoré boli zmiešané a ďalej použité na chemické analýzy a ekotoxikologické testy [59].

4.4.2 Stanovenie základných parametrov výluhu a úprava pH

U vodných výluhov odpadov bola stanovená hodnota pH, ktorá bola neskôr podľa potreby upravovaná. Elektróda na meranie pH bola rekalibrovaná pred samotným meraním pomocou troch kalibračných roztokov o hodnote pH 4,01; 7; 10. Pri teplote 22,8 °C bolo pH výluhu trosky 11,85 a pH výluhu stavebného odpadu pri teplote 24 °C bolo 12,23. Na ekotoxikologické testy je potrebné, aby sa hodnota pH pohybovala v rozmedzí 7-8. Hodnota pH vodných výluhov bola upravená 0,1 a 1 mol/l kyselinou chlorovodíkovou. Objemy pridanej kyseliny sa pohybovali do 2 ml a teda voči objemu výluhu (100 alebo 250 ml) boli zanedbateľné. Po úprave pH boli zmerané aj ďalšie parametre, ktoré charakterizujú vodné výluhy ako konduktivita, špecifický odpor, salinita a suma všetkých iónov (TDS). Pred meraním konduktivity bola prevedená kontrola na štandard 0,01 mol/l KCl. Všetky parametre boli zmerané tiež u demineralizovanej vody (slepé stanovenie).

Takto upravené vzorky boli preliate do 100 a 250 ml polyetylenových fľašiek (PE) a uskladnené v chladničke (4 - 6 °C) max. po dobu 3-4 dní.

4.5 Chemické analýzy materiálov

U neznámej vzorky (materiálu) je nutné najskôr poznať jej zloženie. Zloženie pevného materiálu bolo zistené pomocou XRFS. Vodné výluhy pripravené z odpadov boli analyzované pomocou AAS (stanovený obsah alkálií a vybraných ťažkých kovov).

Zloženie trosky bolo merané na módy pôd a minerálov, konkrétne rudy Cu/Zn.

Atómovou absorpčnou spektroskopiou boli stanovené alkálie Ca a Mg. Taktiež boli stanovené vybrané ťažké kovy – Cd, Pb, Zn. Bola použitá ionizácia plameňom (acetylén – vzduch). Boli nariedené najvyššie štandardy pomocou kalibračných roztokov a demineralizovanej vody. Kalibračné krivky boli nariedené a zostrojené automaticky prístrojom. Boli tiež pripravené a premerané kontrolné roztoky

o koncentrácií stanovovaných iónov 0,1 mg/l, aby bola overená správnosť každej kalibračnej krivky.

4.6 Ekotoxikologické testy

Na stanovenie ekotoxicity stavebného odpadu boli použité tri ekotoxikologické testy. Na testovanie semichronickej toxicity bola použitá horčica biela (*Sinapis alba* L.), test trvajúci 72 hod. Testovanie akútnej toxicity bolo prevedené na organizme žiabronôžke soľnej (*Artemia salina*), testy 24 a 48 hodinové. Nad rámec témy diplomovej práce bol prevedený test zahasenia bioluminiscencie baktérií, bola použitá morská baktéria *Vibrio fischeri*, test 15 a 30 minútový. Všetky testy boli prevedené nielen na stavebnom odpade, ale aj na troske. Na troske bol prevedený aj test na nitel'niciach.

4.6.1 Test semichronickej toxicity na horčici bielej

Na stanovenie semichronickej toxicity bola použitá horčica biela. Test prebiehal 72 hodín pri laboratórnom tlaku a teplote (20 ± 2) °C, bez prístupu svetla. Tento test bol prevedený najskôr na štandarde $K_2Cr_2O_7$. Následne bol pre oba odpady prevedený predbežný test na výluhoch odpadov a kontaktné testy. Po vyhodnotení predbežného testu nasledoval test základný.

Testy na horčici prebiehali v Petriho miskách o priemere 90 mm s filtračným papierom. Boli pripravené štandardy $K_2Cr_2O_7$ o koncentráciách 0, 10, 20, 40, 80, 100, 160 a 320 mg/l do odmerných baniek o objeme 25 ml doplnením daným riediacim roztokom. Do Petriho misiek bolo odpipetované vždy 2,5 ml štandardu dichromanu. Ako kontrola bol použitý riediaci roztok. Po napipetovaní roztoku do Petriho misky bolo nasadených vždy 20 semien horčice bielej pre tri paralelne stanovenia (teda 3x20 semien pre každú koncentráciu). Semená boli približne rovnomerne rozložené po celom filtračnom papieri, ako je zobrazené na obrázku 7. Po nasadení boli Petriho misky na 72 hodín uložené na tmavé miesto pri teplote (20 ± 2) °C. Po 3 dňoch boli odmerané dĺžky korienkov pomocou pravítka s presnosťou ± 1 mm, ako je zobrazené na obrázku 8 a bola vypočítaná inhibícia.



Obr. 7: Nasadené semená horčice bielej v Petriho miske (foto autorka).



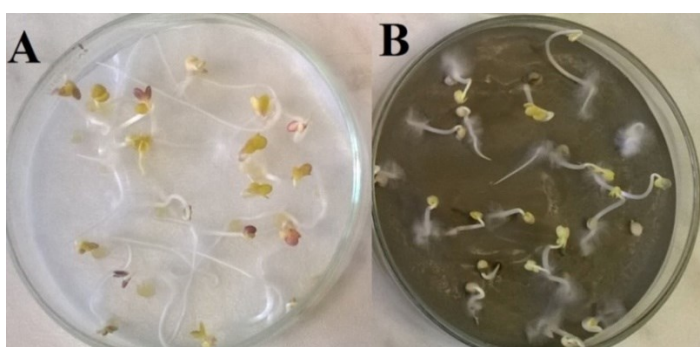
Obr. 8: Meranie dĺžky koreňa horčice bielej po 72 hod, semichronický test, slepé stanovenie, $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ (foto autorka).

Testy na vodnom výluhu stavebného odpadu a trosky boli prevedené rovnakým spôsobom ako na štandarde. Vodný výluh stavebného odpadu a trosky bol nariadený riediacim roztokom, ako je uvedené v tabuľke 3.

Tab. 3: Riedenie vodného výluhu stavebného odpadu a trosky pre semichronický test na horčici bielej.

Riedenie	objem výluhu v roztoku [ml/l]	[rel. %]
0	0	0
400x	2,5	0,25
200x	5	0,5
100x	10	1
50x	20	2
20x	50	5
10x	100	10
5x	200	20
2x	500	50
koncentrovaný výluh	1000	100

Kontaktné testy na stavebnom odpade a troske boli prevedené rovnako v Petriho miskách o priemere 90 mm s filtračným papierom. Do Petriho misiek boli navážené navážky pevnej, presušenej vzorky: 0,02; 0,05; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 1; 3; 5; 7 g, vždy pre tri paralelné stanovenia (u trosky bola použitá navážka 4 g a nebola použitá navážka 7 g). K vzorke bolo odpipetované 5 ml riediaceho roztoku. Vzniknutá hmota bola rovnomerne rozotretá po filtračnom papieri a do nej bolo nasadené 20 semien. Test ďalej prebiehal rovnako ako na štandarde a vodnom výluhu. Na obrázku 9 sú zobrazené Petriho misky s nasadenou horčicou po 72 hod. (A – kontrola, B – navážka 7 g + 5 ml riediaceho roztoku).



Obr. 9: Vyklíčené semená horčice bielej po 72 hod (A – slepé stanovenie, B – navážka 7 g), kontaktný test na stavebnom odpade, $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ (foto autorka).

4.6.2 Test akútnej toxicity na žiabronôžke soľnej

Liahnutie žiabronôžiek prebiehalo vo vysokej kadičke v 3% soľnom roztoku NaCl. Do kadičky bolo pridané malé množstvo vajíčok (2 kávové lyžičky) a roztok bol neustále prebublávaný laboratórnym prebublávaťkom. Teplota pri liahnutí nauplií bola zvyšovaná osvetľovaním lampou (biele svetlo) na cca 27-28 $^{\circ}\text{C}$. Liahnutie trvalo 48 hodín pri tejto teplote.

Nevyliahnuté vajíčka ostávali pri dne, prázdne škrupinky plávali na hladine. Živé žiabronôžky sa pohybovali nad dnom, prípadne v strede kadičky. Boli priťahované bodovým svetlom a lovené pomocou kvapkadla.

Test bol najskôr odskúšaný na štandarde dichromanu, pričom boli použité rovnaké koncentrácie ako pri teste na horčici, viz kapitola 4.6.1. Pre akútny test na oboch výluhoch boli použité riedenia uvedené v tabuľke 4.

Tab. 4: Riedenie vodného výluhu stavebného odpadu a trosky pre akútny test na žiabronôžke soľnej.

Riedenie	objem výluhu v roztoku [ml/l]	[rel. %]
0	0	0
600x	1,67	0,17
400x	2,5	0,25
200x	5	0,5
100x	10	1
50x	20	2
20x	50	5
10x	100	10
5x	200	20
2x	500	50
koncentrovaný výluh	1000	100

Testy na žiabronôžke prebiehali v Petriho miskách o priemere 50 mm vždy v troch paralelných stanoveniach. Do každej Petriho misky bolo odpipetovaných 5 ml príslušného roztoku (dichromanu, výluhu stavebného odpadu a trosky). Ako kontrola bol použitý riediaci roztok. Do každej misky bolo odložené 10 živých jedincov žiabronôžky. Test prebiehal za stáleho svetla a teploty cca 27-28 °C po dobu 24 a 48 hod. Po uplynutí tohto časového intervalu boli spočítané živé jedince, ostatné jedince boli mŕtve a bola vypočítaná mortalita.

4.6.3 Test akútnej toxicity na nitel'niciach

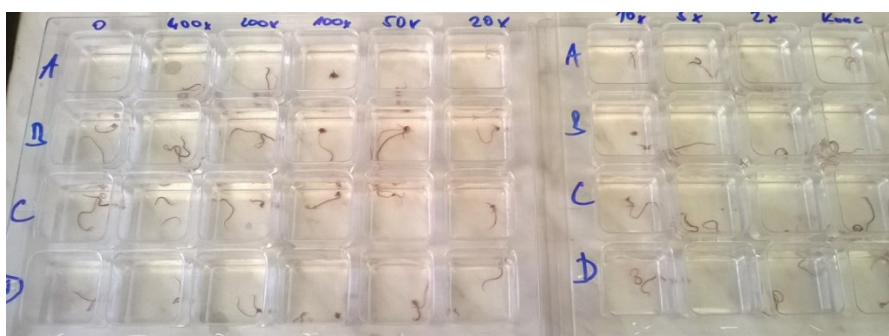
Na overenie akútnej toxicity boli použité okrem žiabronôžiek aj nitel'nice. Nitel'nice sú menej citlivý organizmus ako žiabronôžky. Platnosť testu bola najskôr odskúšaná na štandarde $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, pričom boli použité roztoky o koncentrácii Mn^{2+} 0; 0,05; 0,1; 0,5; 0,7; 1; 1,2 a 1,5 mg/l. Po overení testu na štandarde, ktorý trval 6 hodín, bolo pristúpené k testu výluhu trosky. Testy na nitel'niciach sú používané štandardne štvordňové, ale v tomto prípade po uplynutí tohto času nebola dosiahnutá úmrtnosť 50 %, preto bol test ponechaný až 12 dni.

Príprava organizmu spočívala v prepláchnutí v studenej kohútikovej vode. Nitel'nice boli ponechané v kadičke s kohútikovou vodou a zatiaľ boli pripravené roztoky vodného výluhu trosky podľa tabuľky 5. Objemy výluhu boli odpipetované do odmerných baniek, ktoré boli doplnené kohútikovou vodou po rysku a premiešané.

Tab. 5: Riedenie výluhu trosky pre akútny test na nitel'niciach.

Riedenie	objem výluhu v roztoku [ml/l]	[rel. %]
0	0	0
400x	2,5	0,25
200x	5	0,5
100x	10	1
50x	20	2
20x	50	5
10x	100	10
5x	200	20
2x	500	50
koncentrovaný výluh	1000	100

Test prebiehal na doskách s jamkami (obrázok 10). Do jamôk bolo odpipetované vždy 2,5 ml roztoku o príslušnej koncentrácii. Ako „slepé“ (kontrolné) stanovenie bola použitá kohútiková voda. Pre každú koncentráciu bolo nasadených 8 organizmov, vždy 2 do jednej jamky (celkom 4x2 nitelnice pre každú koncentráciu), ako je zobrazené na obrázku 10. Organizmy boli pozorované po dobu 3 minút, ktorá je štandardne používaná [61] a potom boli spočítané mŕtve jedince. Keďže po uplynutí troch minút prežili všetky jedince, bola sledovaná úmrtnosť v ďalších časových intervaloch a to po 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 19; 21; 24; 27; 48; 72 hod. a ďalej po 7, 8, 12 dňoch.



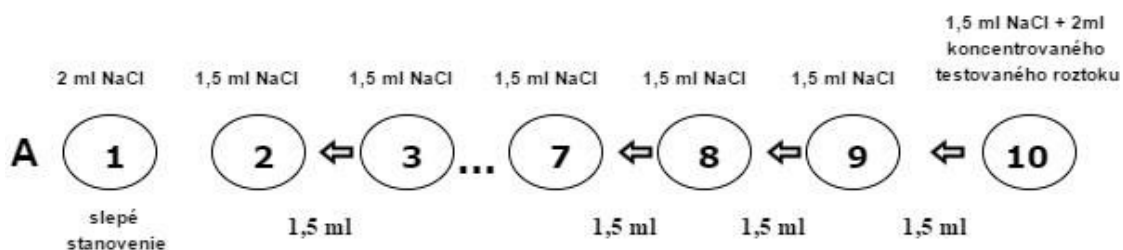
Obr. 10: Nasadené nitel'nice pre akútny test (foto autorka).

4.6.4 Test zahasenia bioluminiscencie na *Vibrio fischeri*

Pred samotným testom bolo upravené pH výluhov stavebného odpadu a trosky z pôvodných hodnôt 12 - 14 pomocou 0,1 a 1 mol/l HCl na hodnotu $7 \pm 0,2$.

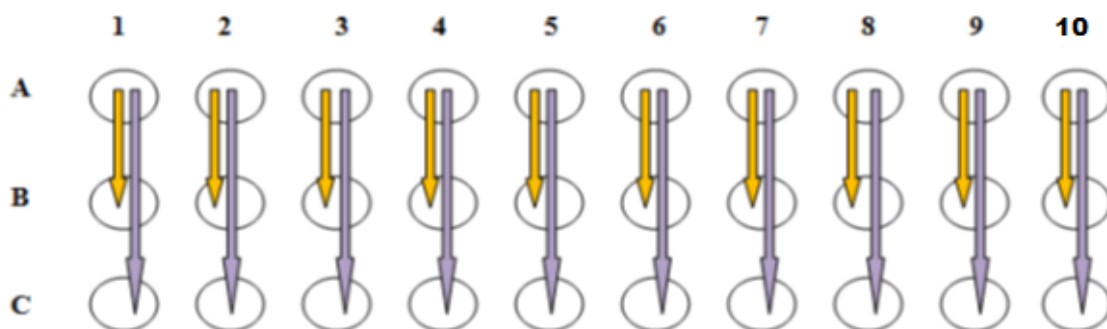
Cieľom ekotoxikologického testu zahasenia bioluminiscencie morských baktérií *Vibrio fischeri* je sledovanie zníženia luminiscencie baktérií, ktorá sa štandardne meria po 5, 15 a 30 minútach. V rámci tejto práce bol použitý iba 15 a 30 minútový test.

Luminiscenčné baktérie *Vibrio fischeri* (LCK 480) boli mrazené a konzervované pri teplote minimálne - 18 °C v mrazničke. Pred začiatkom testu bolo z mrazničky vytiahnuté reaktivačné médium pre pripravené baktérie. Ampulka s reaktivačným médiom bola umiestnená do inkubačného bloku LUMIStherm, kde bol roztok rozmrazený a vytemperovaný na teplotu 15 °C. Po vytemperovaní roztoku bola vytiahnutá mikroskúmavka so zmrazenou baktériou LCK 480. Baktéria bola 2 minúty rozmrazovaná jemným pohybom v kadičke s vodou o teplote presne 20 °C. Potom bola skúmavka vložená do inkubačného bloku a bolo do nej ihneď odpipetované 0,5 ml rozmrazeného reaktivačného média. Potom boli baktérie reaktivované 15 min. v inkubačnom bloku. Medzitým bola v inkubačnom bloku pripravená požadovaná koncentračná rada (dichromanu, výluhov). Na pripravenie koncentračnej rady bola použitá dvojková metóda, viz obrázok 11. Najskôr bolo do kyvety A1 napipetované 2 ml 2 % roztoku NaCl, do kyviet A2-A10 bolo odpipetované 1,5 ml 2 % roztoku NaCl. Následne bolo do kyvety A10 odpipetované 1,5 ml testovaného roztoku a obsah kyvety bol premiešaný pomocou pipety. Potom bolo z kyvety A10 odpipetované 1,5 ml roztoku a pridané do kyvety A9, obsah kyvety bol tiež premiešaný. Rovnakým spôsobom prebiehalo riedenie až po kyvetu A2. Dvojkovou metódou bola teda pripravená koncentračná rada. V kyvete A10 bol pôvodný roztok zriedený 2x a v každej ďalšej kyvete sa nachádzal roztok 2x zriedenejší oproti roztoku v predchádzajúcej kyvete. V kyvete A1 nebol pridaný testovaný roztok, táto kyveta bola použitá ako kontrola.



Obr. 11: Riedenie testovanej vzorky dvojkovou metódou v rade A (vytvorené autorkou diplomovej práce).

Po uplynutí 15 min. bol roztok baktérie kvantitatívne prevedený k zvyšku reaktivačného média a ampulka bola opatrne premiešaná. Následne bolo 0,5 ml roztoku baktérie odpipetované do kyvety B1 a bol spustený čas 15 min. Potom bolo odpipetované 0,5 ml roztoku baktérie do všetkých ostatných kyviet (C1, B2, C2, ..., B10, C10). Po uplynutí 15 min. bola odmeraná bioluminiscencia v kyvete B1, najskôr bola zmeraná počiatočná luminiscencia (I_0), potom bolo do kyvety B1 odpipetované presne 0,5 ml testovaného roztoku (z kyvety A1) a bol spustený čas 15 min. Po 30 sekundách bola zmeraná luminiscencia v ďalšej kyvete (C1) a následne bolo k nej odpipetované 0,5 ml testovaného roztoku z kyvety A1. Týmto postupom bolo postupované až po kyvetu C10, vždy po 30 sekundách (obrázok 12). Po 15 min. boli postupne odmerané luminiscencie (I_{15}) v každej kyvete a rovnako tak aj po 30 min (I_{30}). Luminometer aj s inkubačným blokom je zobrazený na obrázku 13.



Obr. 12: Rozpipetovanie vzorky a baktérie do všetkých kyviet [31].



Obr. 13: Luminometer LUMISTox 300 s inkubačným blokom nastaveným na $(15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ (foto autorka).

5 Výsledky a diskusia

V tejto kapitole sú uvedené namerané a vypočítané hodnoty charakterizujúce testované materiály a vodné výluhy z nich pripravené (pH, vlhkosť). V kapitole sú tiež uvedené a diskutované výsledky ekotoxikologických testov.

5.1 Charakterizácia materiálov a vodných výluhov

Obsah sušiny a vlhkosť, ktoré charakterizujú množstvo vody v materiáli boli vypočítané podľa rovníc 7 a 8 uvedených v kapitole 4.4.1. Priemerné hodnoty obsahu sušiny a vlhkosti sú uvedené v tabuľke 6.

Tab. 6: Obsah sušiny a vlhkosť vzoriek

	stavebný odpad	troska
obsah sušiny [hm. %]	99,99	99,87
vlhkosť [hm. %]	0,01	0,14

Vzorky obsahovali malé množstvo vody. Obsah sušiny bol teda takmer 100%.

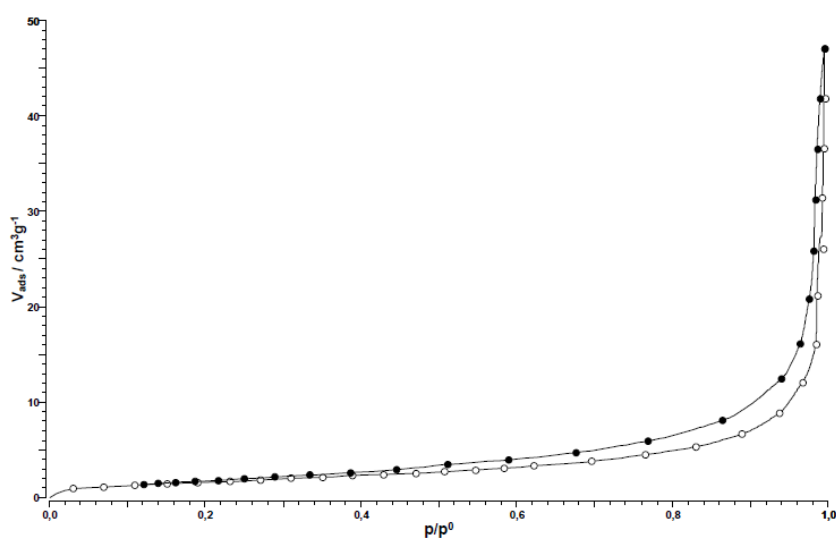
Pomocou XRFS boli stanovené oxidy, ktoré sa nachádzali v pôvodných vzorkách. Tieto hodnoty sú zaznamenané v tabuľke 7.

Tab. 7: Obsah oxidov vo vzorkách stanovený XRFS.

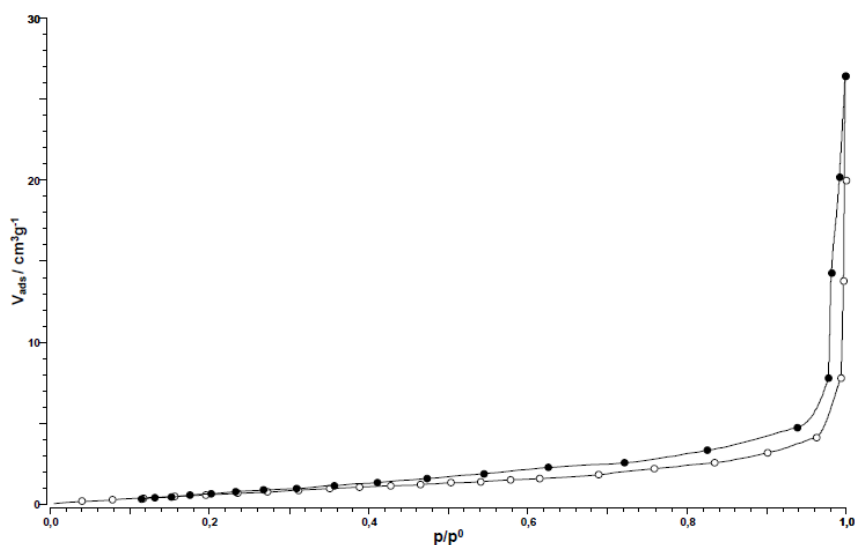
oxidy	stavebný odpad	troska
	[hm. %]	
MgO	0,76	3,04
CaO	10,34	41,08
SO ₃	-	1,63
Fe ₂ O ₃	4,42	0,37
K ₂ O	6,41	0,47
Al ₂ O ₃	5,37	11,55
SiO ₂	71,50	42,03
Na ₂ O	0,58	-
MnO	0,07	-
Cr ₂ O ₃	0,08	-
P ₂ O ₅	0,05	-
TiO ₂	0,34	-

Stavebný odpad mal najvyšší obsah SiO_2 , ktorý tvoril 71,52 hm. %. Významný bol tiež obsah CaO , Fe_2O_3 , Al_2O_3 a K_2O , ktoré presiahli 1 hm. %. U trosky bol obsah SiO_2 rovnako najvyšší a teda 43,43 hm. %, avšak troska obsahovala takmer rovnaké množstvo CaO , teda 42,08 hm. %. Významné množstvo tvoril aj Al_2O_3 , MgO a SO_3 , ktoré presiahli 1 hm. %.

Boli stanovené textúrne parametre. Graf 1 zobrazuje adsorpčne desorpčnú izotermu stavebného odpadu. Graf 2 znázorňuje adsorpčne desorpčnú izotermu trosky. Hodnoty celkového povrchu, objemu mikro- a mezopórov sú uvedené v tabuľke 8.



Graf 1: Adsorpčne-desorpčná izoterma stavebného odpadu.



Graf 2: Adsorpčne-desorpčná izoterma trosky.

Tab. 8: Celkový povrch, objem mikropórov a mezopórov pre stavebný odpad a trosku.

	stavebný odpad	troska
celkový povrch [m²/g]	6,22	3,77
objem mikropórov [cm³/g]	0,002	0,003
objem mezopórov [cm³/g]	0,008	0,008

Celkový povrch stavebného odpadu bol takmer dvojnásobne väčší, ako celkový povrch trosky. Materiály takmer neobsahovali mikropóry. O niečo viac ako mikropórov obsahovali mezopórov, avšak toto množstvo bolo tiež zanedbateľné.

Po príprave výluhu a úprave pH boli zmerané parametre, ktoré sú uvedené v tabuľke 9.

Tab. 9: Namerané parametre vodných výluhov odpadov.

	stavebný odpad	troska	demineralizovaná voda
teplota [°C]	22,6	23,4	23
pH	7,51	7,93	8,36
konduktivita [μS/cm]	618	901	1,5
špecifický odpor [Ω.cm]	1640	1111	664
TDS [mg/l]	616	900	1
salinita [%]	0,2	0,4	0

Podľa požiadavok na ekotoxikologické testy bolo pH výluhov upravené na hodnoty v rozmedzí 7-8. Po úprave pH sa vo výluhu trosky nachádzalo viac rozpustených iónov ako vo výluhu stavebného odpadu a teda bola vyššia aj salinita (zasolenie roztoku). Výluh trosky mal silný sulfánový zápach.

Obsah vybraných ťažkých kovov a alkálií v pripravenom výluhu bol stanovený pomocou AAS. Koncentrácie stanovovaných iónov sú zaznamenané v tabuľke 10. Obsah niektorých iónov bol pod medzou stanoviteľnosti metódy, tieto ióny nebolo možné použitou metódou presne kvantifikovať.

Tab. 10: Koncentrácie vybraných iónov stanovené vo výluhoch pomocou AAS.

prvky	stavebný odpad	troska
	[mg/l]	
Mg	< 0,05	0,174
Ca	130	90,2
Cd	< 0,05	< 0,05
Pb	< 5	< 5
Zn	0,14	< 0,1

Najvyššiu koncentráciu vo výluhoch mal vápnik. Vápnik bol vo veľkej miere zastúpený aj v pevných vzorkách. Z vybraných ťažkých kovov bolo možné kvantifikovať iba zinok vo výluhu stavebného odpadu.

5.2 Ekotoxikologické testy

5.2.1 Semichronický test na horčici bielej

Namerané dĺžky korienkov horčice po 72 hodinách boli spriemerované a podľa rovnice 1 (viz. kapitola 3.1.6) boli vypočítané inhibície pre jednotlivé koncentrácie. Test bol vyhodnotený pomocou programu OriginPro 6.1, zo sigmoidy bola vyčíslená hodnota EC20, EC50, EC80. Z priamkovej závislosti boli tiež vypočítané hodnoty EC20, EC50, EC80 z rovnice priamky a boli porovnané s hodnotami zo sigmoidálneho stanovenia.

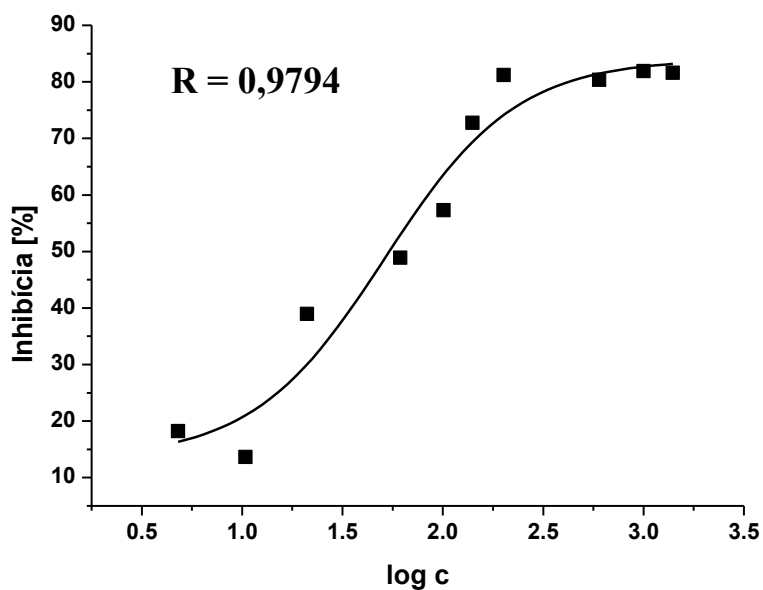
Testom na štandarde dichromanu draselného bola overená hodnota EC50, ktorá vyšla zo sigmoidálneho stanovenia 45,6 mg/l. Metodický pokyn odboru odpadov [62] udáva, že test je platný pokiaľ je hodnota v rozmedzí 10-50 mg/l.

Pri teste na výluhu stavebného odpadu a trosky boli inhibície záporné u všetkých testovaných koncentrácií, teda došlo k stimulácii rastu koreňov. Výsledky testu výluhu stavebného odpadu sú uvedené v prílohe 1. Tento test nebolo možné vyhodnotiť a bolo pristúpené ku kontaktným testom na oboch materiáloch.

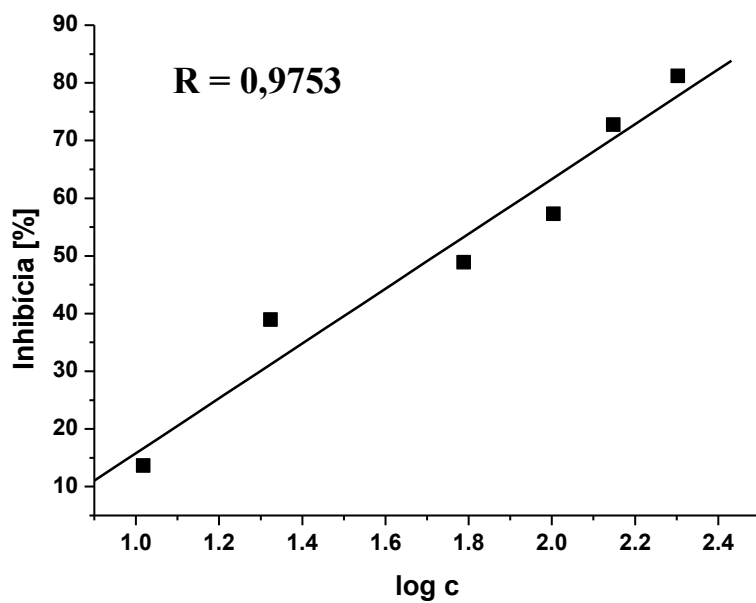
Kontaktný test stavebného odpadu na horčici bielej

Kontaktný test prebiehal pri laboratórnej teplote. Bola zostrojená závislosť inhibície na logaritme koncentrácie (graf 3). Sigmoidou boli preložené všetky body a boli určené hodnoty EC20, EC50 a EC80. Na vytvorenie priamkovej závislosti (graf 4) bola použitá lineárna časť sigmoidy (6 bodov) a z rovnice priamky $y = 47,55 (\pm 5,39)x -$

31,76 ($\pm 9,82$) boli vypočítane rovnako EC20, EC50 a EC80. Všetky tieto hodnoty sú uvedené v tabuľke 11.



Graf 3: Sigmoidálna závislosť inhibície na log c pre stavebný odpad, test na horčici bielej, 72 hod., $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 4: Lineárna závislosť inhibície na log c pre stavebný odpad test na horčici bielej, 72 hod., $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tab. 11: Hodnoty EC_x semichronického testu stavebného odpadu pre horčicu bielu, 72 hod..

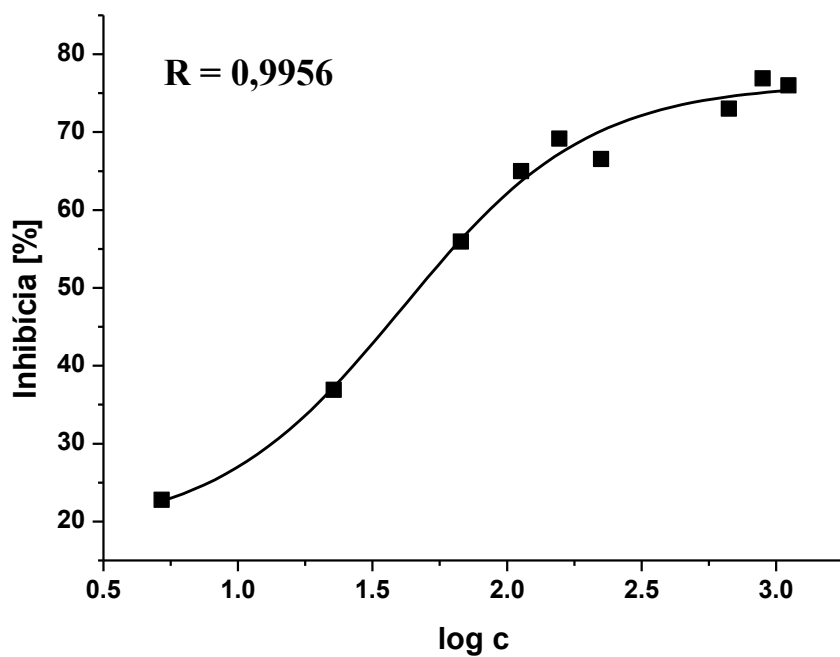
	EC20	EC50	EC80
	[g/l]		
sigmoidálna závislosť	18,2	51,29	144,54
lineárna závislosť	12,3	52,48	223,87

Hodnoty získane zo sigmoidy a lineárnej závislosti sa najmenej líšili u hodnoty EC50, keďže táto hodnota sa nachádzala v strede lineárnej časti sigmoidy. Hodnoty EC20 a EC80 sa nachádzali v krajných oblastiach lineárnej časti sigmoidy, preto nebolo možné tieto hodnoty, vypočítane z lineárnej závislosti, brať do úvahy, ale pre porovnanie sú uvedené.

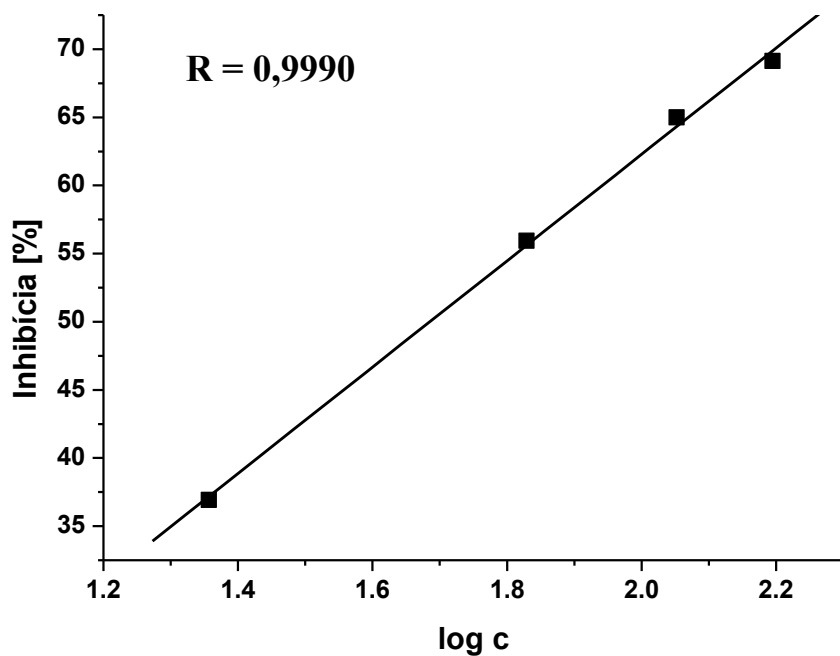
Porovnaním korelačných koeficientov z lineárnej ($R = 0,9753$) a sigmoidalnej ($R = 0,9794$) závislosti, bolo posúdené ako presnejšie sigmoidálne stanovenie. **Hodnotu EC50 pre stavebný odpad, stanovené semichronickým kontaktným testom na horčici bielej po 72 hod., bolo 51,29 g/l.**

Kontaktný test trosky na horčici bielej

Kontaktný test na troske bol vyhodnotený rovnakým spôsobom ako u stavebného odpadu. Sigmoidálna závislosť je zobrazená grafom 5. Lineárnu časť sigmoidy tvorili iba 4 body, tieto boli preložené priamkou (graf 6) bola získaná rovnica priamky $y = 39,02 (\pm 1,21)x - 15,75 (\pm 2,29)$. Dosadením hodnoty 50 za y bola vypočítaná EC50. Hodnoty sú zaznamenané v tabuľke 12.



Graf 5: Sigmoidálna závislosť inhibície na $\log c$ pre trosku test na horčici bielej, 72 hod., $t = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 6: Lineárna závislosť inhibície na $\log c$ pre trosku test na horčici bielej, 72 hod., $t = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tab. 12: Hodnoty EC_x semichronického testu trosky pre horčicu bielu, 72 hod.

	EC20	EC50	EC80
	[g/l]		
sigmoidálna závislosť	13,5	40,76	123,04
lineárna závislosť	-	48,42	-

Z lineárnej závislosti bola vypočítaná iba hodnota EC50, keďže lineárna oblasť sigmoidy sa pohybovala v rozmedzí inhibície cca 35-70 %. **Hodnota EC50 po 72 hod. kontaktného testu trosky na horčici stanovená zo sigmoidálnej závislosti bola 40,76 g/l.** Porovnaním korelačných koeficientov bola ako presnejšia posúdená lineárna závislosť. Hodnota EC50 vypočítaná z lineárnej závislosti bola rovná 48,42 g/l, avšak pri lineárnom stanovení boli použité iba 4 body a teda ako presnejšie stanovenie bola braná sigmoidálna závislosť, v ktorej boli použité všetky namerané body.

Boli porovnané hodnoty EC50 pre stavebný odpad a trosku. Ako toxickejší materiál pre horčicu bielu bola posúdená troska, keďže hodnota EC50 bola 40,76 g/l. Hodnota EC50 pre stavebný odpad (51,29 g/l) bola vyššia o viac ako 10 g/l.

Namerané dĺžky korienkov pre všetky kontaktné testy na horčici sú uvedené v prílohe 2.

5.2.2 Akútny test toxicity na žiabronôžke soľnej

Akútna toxicita vodných výluhov stavebného odpadu a trosky bola stanovená testom na žiabronôžke soľnej. V každej Petriho miske boli spočítané živé jedince, ostatné jedince boli mŕtve. Bola vytvorená priemerná hodnota mŕtvych jedincov pre každú koncentráciu. Z priemerného počtu mŕtvych jedincov bola vypočítaná mortalita pre každú koncentráciu podľa rovnice 2, viz kapitola 3.1.6. Hodnoty úmrtnosti boli vypočítané pre časy 24 a 48 hod.

V programe Origin bola vytvorená závislosť úmrtnosti na log c, body boli preložené sigmoidou. Hodnoty úmrtnosti boli tiež prepočítané na probity a bola vytvorená lineárna závislosť probitov na log c. Zo všetkých zostrojených závislostí boli určené hodnoty EC50. Zo sigmoidálnej závislosti boli určené aj hodnoty EC20 a EC80.

Test na žiabronôžke prebiehal pri laboratórnom tlaku. Teplota počas testu bola zvýšená osvetlením lampou na 27-28 °C.

Testom na štandarde bola overená platnosť testu, získaná hodnota EC50 po 24 hod. bola $30,58 \pm 1,25$ mg/l. Hodnota EC50 po 48 hod. bola $8,69 \pm 0,89$ mg/l, čo sa približne zhoduje s hodnotami uvádzanými v literatúre [63].

Test akútnej toxicity výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej (24 a 48 hod.)

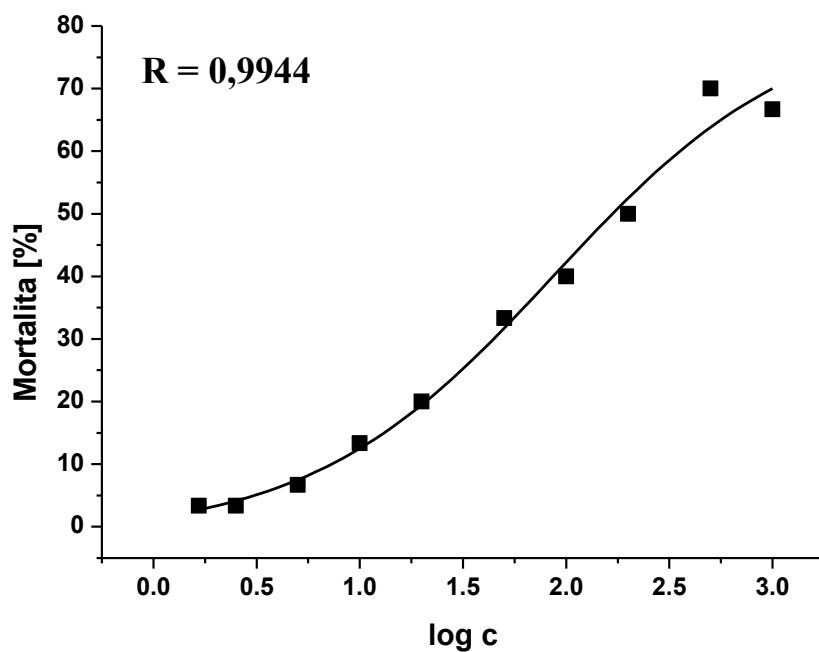
Vypočítané mortality po 24 a 48 hod. sú zaznamenané v tabuľkách 13 a 14. Z týchto dát boli vytvorené sigmoidálne závislosti (grafy 7 a 8), z ktorých boli určené hodnoty EC20, EC50 a EC80, ktoré sú zaznamenané v tabuľke 14. Mortalita bola prepočítaná na probity (podľa tabuľky uvedenej v prílohe 3) a boli zostrojené lineárne závislosti probitov na $\log c$ (grafy 9 a 10). Z týchto závislostí bola tiež vypočítaná hodnota EC50, zaznamenaná v tabuľke 15.

Tab. 13: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh stavebného odpadu, 24 hod., $t = 27$ °C.

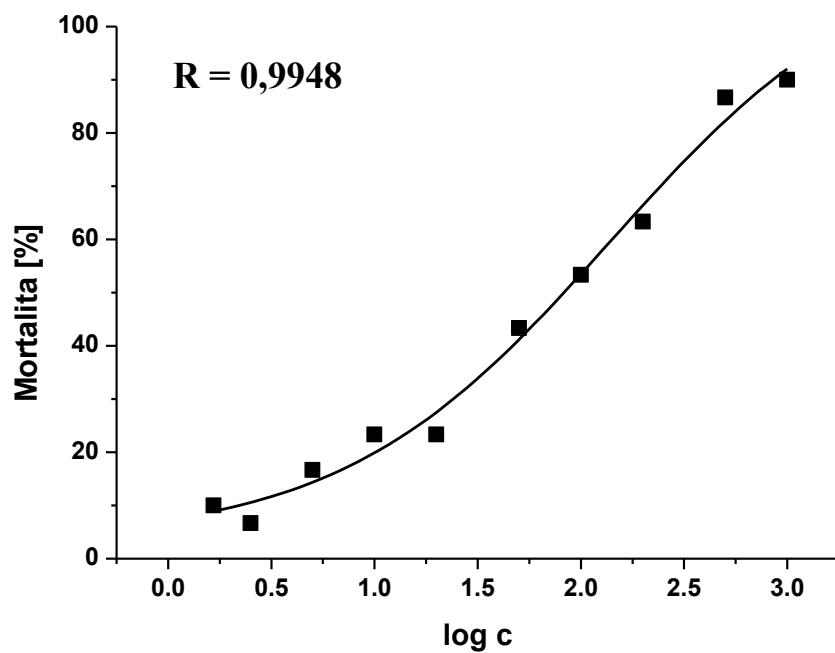
c [ml/l]	log c	celkom jedincov	počet živých jedincov			úmrtnosť, počet	mortalita [%]
			1. stanovenie	2. stanovenie	3. stanovenie		
0	-	30	10	10	10	0	0,00
1,67	0,223	30	9	10	10	1	3,33
2,5	0,398	30	10	9	10	1	3,33
5	0,699	30	9	9	10	2	6,67
10	1,000	30	8	8	10	4	13,33
20	1,301	30	8	8	8	6	20,00
50	1,699	30	7	6	7	10	33,33
100	2,000	30	6	5	7	12	40,00
200	2,301	30	4	6	5	15	50,00
500	2,699	30	3	2	4	21	70,00
1000	3,000	30	4	2	4	20	66,67

Tab. 14: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh stavebného odpadu, 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.

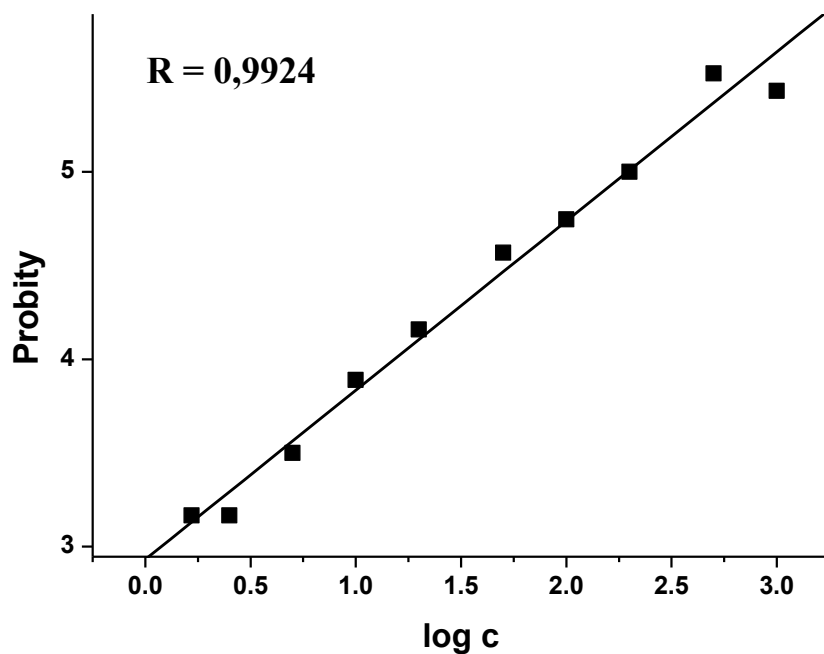
c [ml/l]	log c	celkom jedincov	počet živých jedincov			úmrtnosť, počet	mortalita [%]
			1. stanovenie	2. stanovenie	3. stanovenie		
0	-	30	9	9	10	2	6,67
1,67	0,223	30	9	9	9	3	10,00
2,5	0,398	30	9	9	10	2	6,67
5	0,699	30	8	8	9	5	16,67
10	1,000	30	8	8	7	7	23,33
20	1,301	30	8	8	7	7	23,33
50	1,699	30	7	5	5	13	43,33
100	2,000	30	5	4	5	16	53,33
200	2,301	30	4	3	4	19	63,33
500	2,699	30	1	2	1	26	86,67
1000	3,000	30	1	1	1	27	90,00



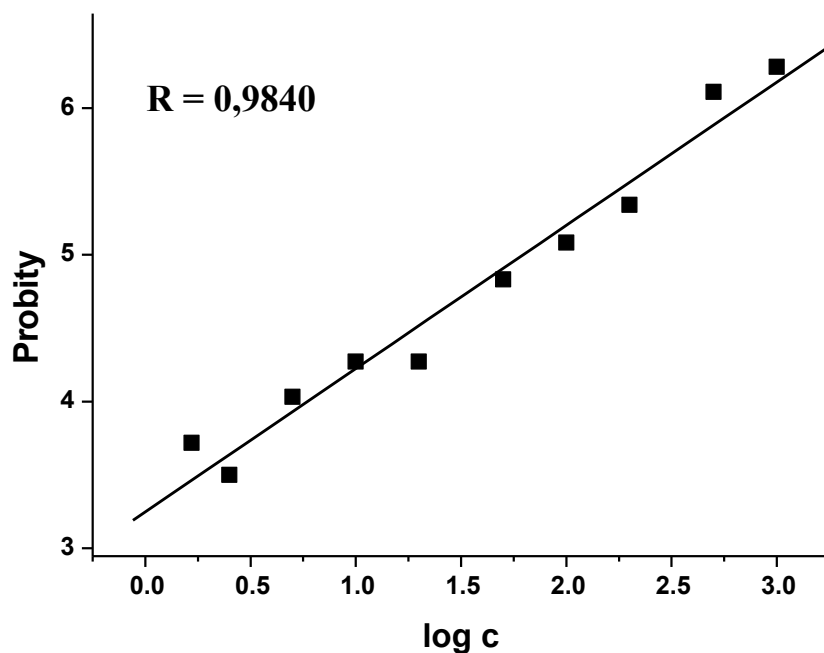
Graf 7: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 8: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 9: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 10: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tab. 15: Efektívne koncentrácie pre akútny test toxicity výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej pre 24 a 48 hod.

čas	Závislosť	EC20	EC50	EC80
		[ml/l]		
24 hod.	sigmoidálna	13,31	$87,24 \pm 1,44$	571,44
	Lineárna	-	216,89	-
	probitová lineárna	-	195,2	-
48 hod.	sigmoidálna	17,35	$137,66 \pm 1,74$	1092,27
	Lineárna	-	25,33	-
	probitová lineárna	-	29,33	-

Hodnoty EC50 získané z lineárnej a probitovej lineárnej závislosti boli podobné. Sigmoidálna závislosť bola posúdená ako nepoužiteľná pre toto stanovenie. Ako

najpresnejšie stanovenie bola posúdená probitová závislosť, keďže pri nej boli použité všetky namerané hodnoty. **Ako hodnota EC50 pre akútny test na žiabronôžke soľnej pre výluh stavebného odpadu bola teda stanovená pre 24 hod. koncentrácia 195,2 ml/l a pre 48 hod. 29,33 ml/l.**

Test akútnej toxicity výluhu trosky na žiabronôžke soľnej (24 a 48 hod.)

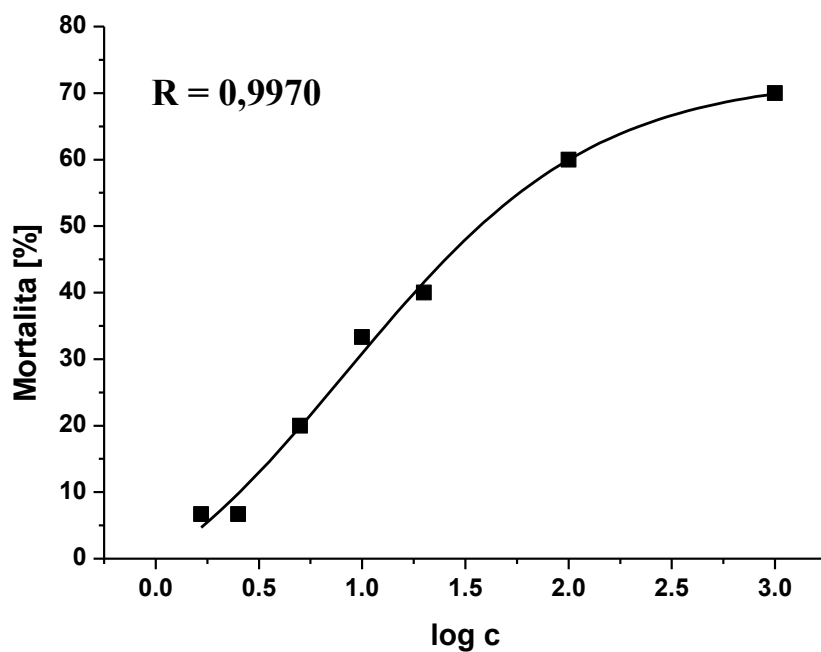
Vypočítané mortality po 24 a 48 hod. sú zaznamenané v tabuľkách 16 a 17. Z týchto dát boli vytvorené sigmoidálne závislosti (grafy 11 a 12), z ktorých boli určené hodnoty EC20, EC50 a EC80, ktoré sú zaznamenané v tabuľke 18. Mortalita bola prepočítaná na probity (podľa tabuľky v prílohe 3) a boli zostrojené lineárne závislosti probitov na log c (grafy 13 a 14). Z týchto závislostí boli tiež vypočítaná hodnota EC50, zaznamenaná v tabuľke 18.

Tab. 16: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh trosky, 24 hod., t = 27 °C.

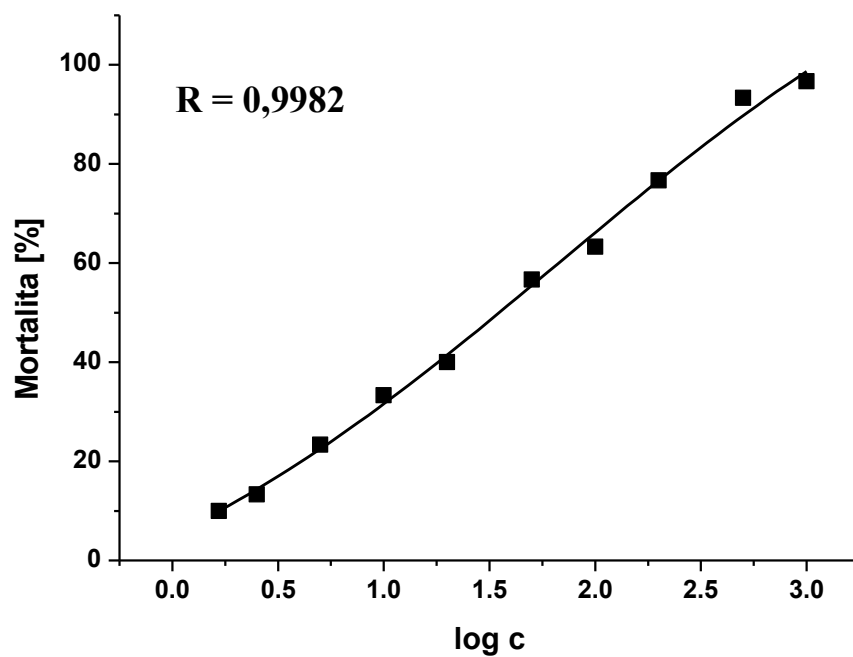
c [ml/l]	log c	celkom jedincov	počet živých jedincov			úmrtnosť, počet	mortalita [%]
			1. stanovenie	2. stanovenie	3. stanovenie		
0	-	30	9	10	10	1	3,33
1,67	0,223	30	9	9	10	2	6,67
2,5	0,398	30	9	9	10	2	6,67
5	0,699	30	7	8	9	6	20,00
10	1,000	30	6	7	7	10	33,33
20	1,301	30	6	6	6	12	40,00
50	1,699	30	5	5	6	14	46,67
100	2,000	30	3	4	5	18	60,00
200	2,301	30	4	5	5	16	53,33
500	2,699	30	5	5	2	18	60,00
1000	3,000	30	3	4	2	21	70,00

Tab. 17: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh trosky, 48 hod. $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.

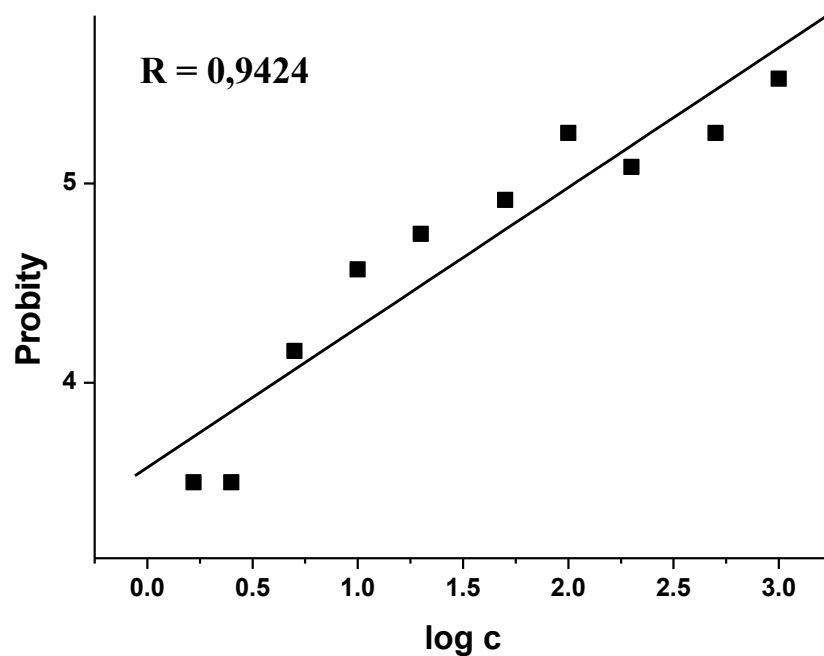
c [ml/l]	log c	celkom jedincov	počet živých jedincov			úmrtnosť, počet	mortalita [%]
			1. stanovenie	2. stanovenie	3. stanovenie		
0	-	30	9	9	10	2	6,67
1,67	0,223	30	9	8	10	3	10,00
2,5	0,398	30	9	9	8	4	13,33
5	0,699	30	7	8	8	7	23,33
10	1,000	30	6	7	7	10	33,33
20	1,301	30	6	6	6	12	40,00
50	1,699	30	4	3	6	17	56,67
100	2,000	30	3	4	4	19	63,33
200	2,301	30	2	2	3	23	76,67
500	2,699	30	0	1	1	28	93,33
1000	3,000	30	0	1	0	29	96,67



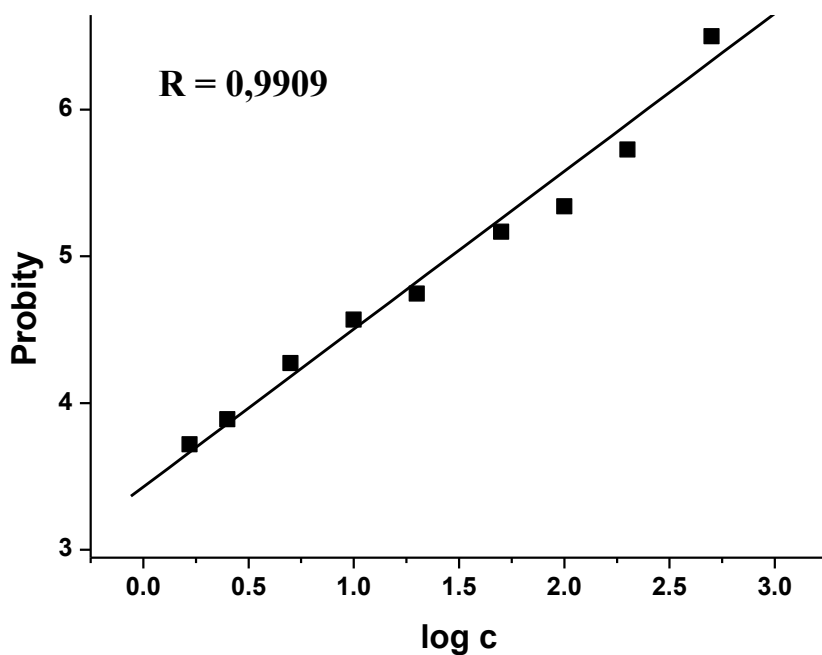
Graf 11: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 12: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 13: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.



Graf 14: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tab. 18: Efektívne koncentrácie pre akútny test toxicity výluhu trosky na žiabronôžke soľnej pre 24 a 48 hod.

čas	závislosť	EC20	EC50	EC80
		[ml/l]		
24 hod.	sigmoidálna	-	$8,59 \pm 1,74$	-
	lineárna	-	97,41	-
	probitová lineárna	-	107,29	-
48 hod.	sigmoidálna	1,5	$65,98 \pm 1,82$	2903,35
	lineárna	-	32,48	-
	probitová lineárna	-	28,95	-

Rovnako ako pri teste výluhu stavebného odpadu bola ako najpresnejšia posúdená probitová analýza. Ako hodnota EC50 pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej bola teda pre 24 hod. stanovená koncentrácia 107,29 ml/l a pre 48 hod. koncentrácia 28,95 ml výluhu na 1 l roztoku.

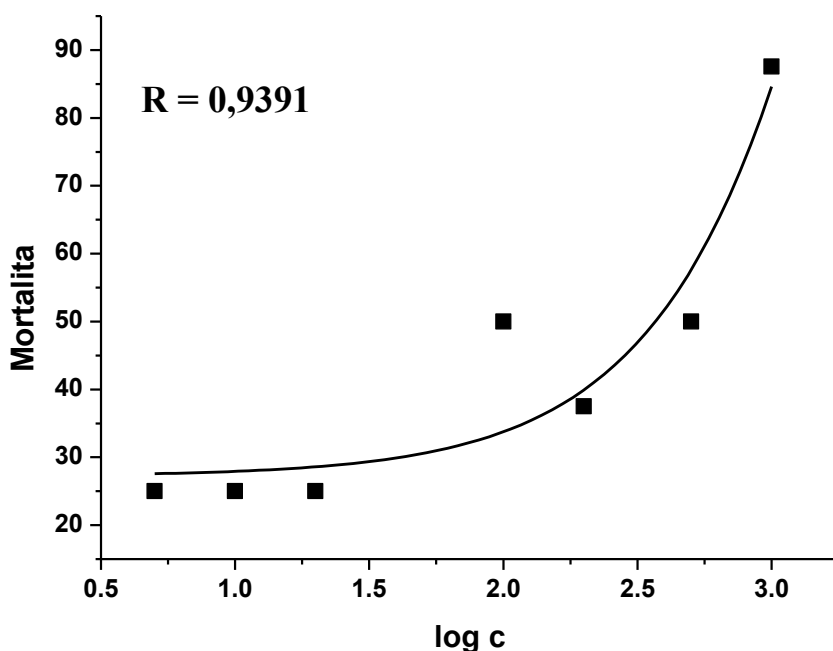
Boli porovnané hodnoty EC50 pre výluh stavebného odpadu a trosky po 24 a 48 hod. Po 24 hod. vykazoval výluh trosky o 45% vyššiu toxicitu, ako výluh stavebného odpadu. Po 48 hod. však bola hodnota EC50 a aj toxicita takmer rovnaká.

5.2.3 Akútny test na nitel'niciach

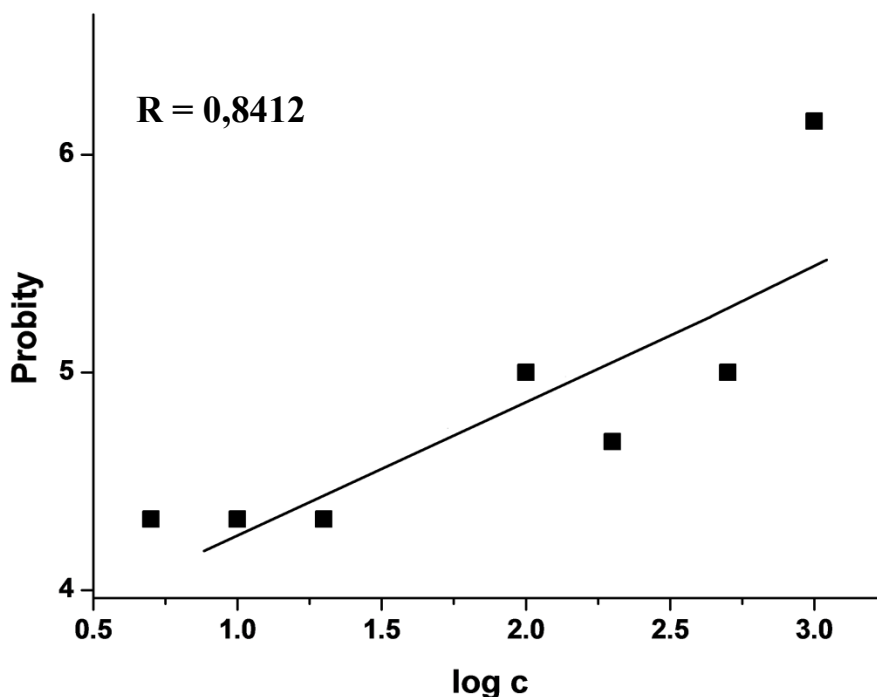
Test na nitel'niciach bol prevedený na štandarde. Hodnota EC50 po 6 hodinách bola $0,57 \pm 0,067$ mg/l $\text{MnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, čo zodpovedá hodnotám uvádzaným v literatúre [63].

Akútny test výluhu trosky na nitel'nici

Pri akútnom teste na nitel'niciach boli v daných časových intervaloch počítané živé jedince. K úmrtnosti nad 50 % došlo až po 12 dňoch. Tento test bol prevedený iba na výluhu trosky. Zo získaných dát bola vypočítaná úmrtnosť rovnako ako v prípade žiabronôžky podľa rovnice 2 (viz kapitola 3.1.6). Bola zostrojená sigmoidálna závislosť (graf 15) úmrtnosti na log . Úmrtnosť bola prepočítaná na probity podľa tabuľky uvedenej v prílohe 3 a bola zostrojená lineárna závislosť (graf 16) probitov na log c po 12 dňoch.



Graf 15: Sigmoidálna závislosť úmrtnosti na log c pre akútny test výluhu trosky na nitel'niciach po 12 dňoch, $t = 22^\circ\text{C}$.



Graf 16: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu trosky na nitel'niciach po 12 dňoch, $t = 22^{\circ}\text{C}$.

Z grafických závislostí boli vypočítané hodnoty EC50. Hodnota EC50 určená zo sigmoidálnej závislosti presahovala použitý koncentračný rozsah. Sigmoidálna závislosť bola posúdená ako nepoužiteľná pre toto stanovenie, keďže chýbala horná časť sigmoidy. Hodnota EC50 stanovená z lineárnej probitovej závislosti bola 130,43 ml/l, čo približne zodpovedalo 50 % úmrtnosti zistenej pri teste. Hodnoty úmrtnosti a teda aj hodnota EC50 v tomto teste je však ovplyvnená trvaním testu. Nie je možné posúdiť, do akej miery bola úmrtnosť spôsobená toxicitou, keďže boli pozmenené počiatkové podmienky testu a nitel'nice mali nedostatok potravy a kyslíku.

5.2.4 Test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri*

Test bol najskôr odskúšaný na štandarde a bola overená jeho platnosť podľa normy ISO 11348-2 [28]. Hodnota EC50 bola 17,61 mg/l a korekčný faktor bol 1,27, pričom norma určuje rozsah 0,6-1,3.

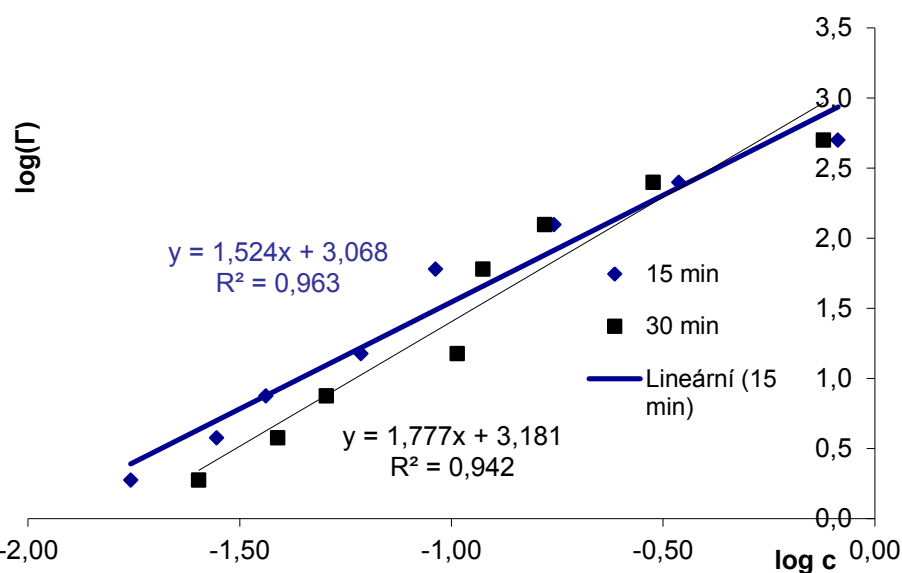
Test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* na výluhu stavebného odpadu

Testy na výluhu stavebného odpadu boli prevedené podľa normy ISO 11348-2 [51]. Vzorky boli nariadené dvojkovou metódou. Pomocou vzorcov 3-6 (kapitola 3.1.6) boli vypočítané korekčný faktor, korigovaná hodnota luminiscencie, inhibičný

účinnok a hodnota gama skúšanej vzorky. Hodnoty použité k ďalším výpočtom a zostrojeniu grafu sú uvedené v tabuľke 19. Z nameraných dát bola zostrojená závislosť $\log(\Gamma)$ na $\log c$ (graf 17). Z rovnice priamok boli vypočítané efektívne koncentrácie zaznamenané v tabuľke 20.

Tab. 19: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test vodného výluhu stavebného odpadu na *Vibrio fischeri*, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

koncentrácia [ml/l]	log c	15 min.			30 min.		
		H ₁₅ [%]	Γ ₁₅	logΓ	H ₃₀ [%]	Γ ₃₀	logΓ
1,8828	0,275	1,72	0,02	-1,757	2,47	0,03	-1,597
3,7656	0,576	2,71	0,03	-1,554	3,74	0,04	-1,41
7,53125	0,877	3,52	0,04	-1,438	4,83	0,05	-1,295
15,0625	1,178	5,76	0,06	-1,214	9,35	0,1	-0,986
60,25	1,78	8,4	0,09	-1,038	10,62	0,12	-0,925
125	2,097	14,87	0,17	-0,758	14,24	0,17	-0,78
250	2,398	25,63	0,34	-0,463	23,05	0,3	-0,524
500	2,699	45,02	0,82	-0,087	43,07	0,76	-0,121



Graf 17: Závislosť $\log(\Gamma)$ na $\log c$, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* na výluhu stavebného odpadu, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

Tab. 20: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* pre výluh stavebného odpadu po 15 a 30 minútach, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

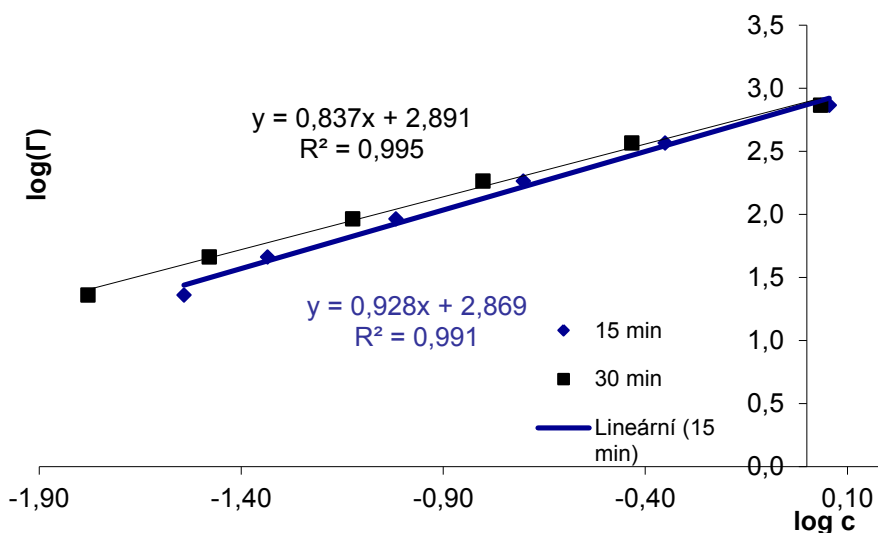
EC _x	15 min.	30 min.
	[ml/l]	
5	13,15	8,11
10	41,05	30,6
20	141,28	129,25

Pri teste nebola dosiahnutá inhibícia 50 %, preto nebolo možné určiť hodnoty EC₅₀. Boli však určené hodnoty EC₅, EC₁₀ a EC₂₀.

Keďže pri štandardnom riedení nebola dosiahnutá inhibícia 50 % bolo použité iné riedenie, aby boli dosiahnuté vyššie koncentrácie vzorky. Keďže vzorky obsahovali dostatočne množstvo soli bola zaistená požadovaná salinita, aj keď bolo pridané menšie množstvo NaCl. Do kyvety A10 bolo odpipetované 0,8 ml 2% NaCl a 2,2 ml koncentrovaného výluhu stavebného odpadu. Ďalej už riedenie pokračovalo dvojkovou metódou a test prebiehal rovnako ako predošlý. Výsledky tohto testu sú uvedené v prílohe 4. Hodnoty použité k ďalším výpočtom a na zostrojenie grafu sú uvedené v tabuľke 21. Bola zostrojená grafická závislosť $\log(\Gamma)$ na $\log c$ (graf 18).

Tab. 21: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test výluhu stavebného odpadu s upravenými koncentraciami na *Vibrio fischeri*, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

koncentrácia [ml/l]	log c	15 min.			30 min.		
		H ₁₅ [%]	Γ ₁₅	logΓ	H ₃₀ [%]	Γ ₃₀	logΓ
22,92	1,36	2,79	0,03	-1,541	1,64	0,02	-1,779
45,83	1,661	4,43	0,05	-1,334	3,22	0,03	-1,479
91,67	1,962	8,78	0,1	-1,017	6,99	0,08	-1,124
183,34	2,263	16,57	0,2	-0,702	13,64	0,16	-0,802
366,76	2,564	30,82	0,45	-0,351	26,93	0,37	-0,434
733,35	2,865	53,19	1,14	0,055	51,98	1,08	0,034



Graf 18: Závislosť $\log(\Gamma)$ na $\log c$, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* na výluhu stavebného odpadu s upravenými koncentráciami, $t = (15 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

Z rovníc priamok boli dopočítané efektívne koncentrácie. Keďže po upravení koncentrácií bola dosiahnutá inhibícia viac ako 50 % bolo možné určiť aj hodnotu EC_{50} . Hodnoty efektívnych koncentrácií sú uvedené v tabuľke 22. Záporné inhibície boli vylúčené.

Tab. 22: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* pre výluh stavebného odpadu po 15 a 30 minútach, upravené koncentrácie, $t = (15 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

EC_x	15 min.	30 min.
	[ml/l]	
5	48,11	66,25
10	96,28	123,82
20	204,39	244,09
50	740,20	778,79

Hodnota EC_{50} testu výluhu stavebného odpadu na *Vibrio fischeri* bola stanovené po 15 minútach ako 740,20 ml výluhu na 1 l roztoku, po 30 minútach bola hodnota EC_{50} rovná 778,79 ml výluhu na 1 l roztoku.

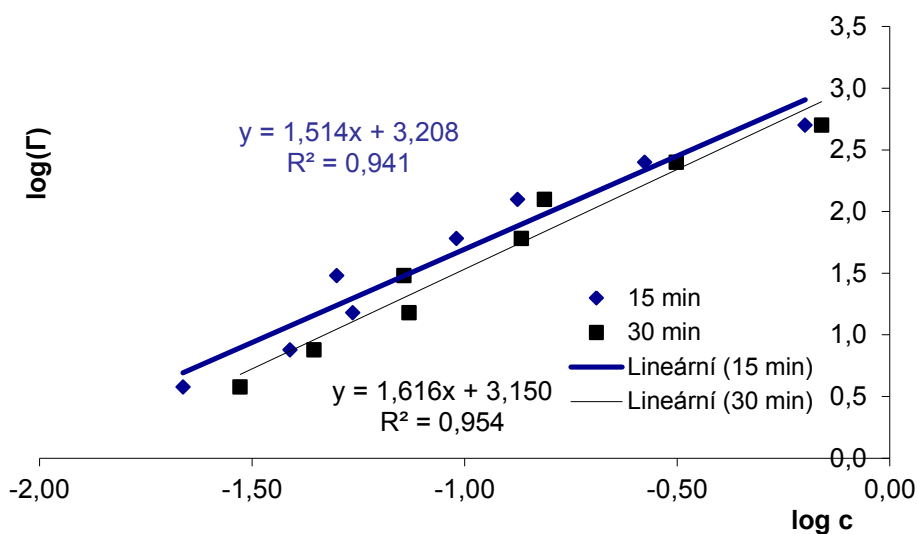
Test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* na výluhu trosky

Testy na výluhu trosky boli prevedené podľa normy [28]. Vzorky boli nariadené dvojkovou metódou. Pomocou vzorcov 3-6 (kapitola 3.1.6) boli vypočítané korekčný faktor, korigovaná hodnota luminiscencie a inhibičný účinok skúšanej vzorky. Hodnoty

použité k ďalším výpočtom a zostrojeniu grafu sú uvedené v tabuľke 23. Z nameraných dát bola zostrojená závislosť $\log(\Gamma)$ na $\log c$ (graf 19). Z rovnice priamok boli vypočítané efektívne koncentrácie zaznamenané v tabuľke 24.

Tab. 23: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test vodného výluhu trosky na *Vibrio fischeri*, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

koncentrácia [ml/l]	log c	15 min.			30 min.		
		H ₁₅ [%]	Γ ₁₅	log ₁₀ Γ	H ₃₀ [%]	Γ ₃₀	log ₁₀ Γ
3,7656	0,576	2,13	0,02	-1,662	2,88	0,03	-1,528
7,53125	0,877	3,74	0,04	-1,411	4,24	0,04	-1,354
15,0625	1,178	5,18	0,05	-1,263	6,89	0,07	-1,131
30,125	1,479	4,76	0,05	-1,301	6,72	0,07	-1,142
60,25	1,78	8,73	0,1	-1,019	11,98	0,14	-0,866
125	2,097	11,75	0,13	-0,876	13,36	0,15	-0,812
250	2,398	20,95	0,27	-0,577	23,95	0,31	-0,502
500	2,699	38,73	0,63	-0,199	40,88	0,69	-0,16



Graf 19: Závislosť $\log(\Gamma)$ na $\log c$, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* na výluhu trosky, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

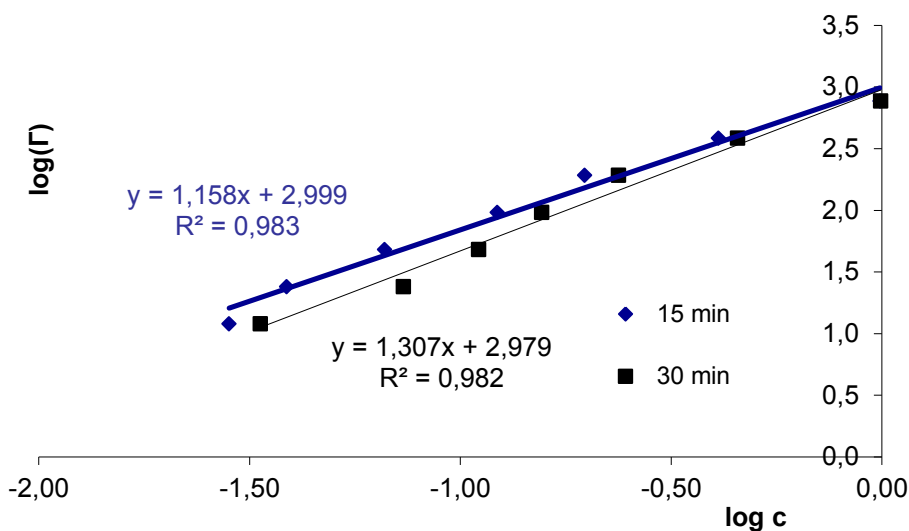
Tab. 24: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* pre výluh trosky po 15 a 30 minútach, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

ECx	15 min.	30 min.
	[ml/l]	
5	18,68	12
10	57,92	40,49
20	197,72	150,18

Rovnako ako pri teste výluhu stavebného odpadu nebola dosiahnutá inhibícia 50 %, preto nebolo možné vypočítať hodnotu EC50. Boli však vypočítané hodnoty EC5, EC10 a EC20. Aby boli dosiahnuté vyššie koncentrácie výluhu v testovaných roztokoch bolo upravené riedenie. Do kyvety A10 bolo odpipetované 0,7 ml 2% NaCl v demineralizovanej vode a k tomu bolo pridané 2,3 ml koncentrovaného výluhu trosky. Ďalej prebiehal test podobne ako v predchádzajúcich prípadoch. Týmto boli dosiahnuté vyššie koncentrácie výluhu a zároveň bola zachovaná potrebná salinita, keďže výluh samotný obsahoval dostatok NaCl. Výsledky tohto testu sú uvedené v prílohe 4. Výsledky ktoré boli ďalej používané sú uvedené v tabuľke 25. Graf 20 znázorňuje lineárne závislosti $\log(\Gamma)$ na $\log c$. Z rovníc priamok boli dopočítané hodnoty efektívnych koncentrácií, ktoré sú uvedené v tabuľke 26.

Tab. 25: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test výluhu trosky s upravenými koncentraciami na *Vibrio fischeri*, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$.

koncentrácie [ml/l]	log c	15 min.			30 min.		
		H ₁₅ [%]	Γ_{15}	log Γ	H ₃₀ [%]	Γ_{30}	log Γ
11,98	1,078	2,75	0,03	-1,549	3,25	0,03	-1,474
23,96	1,379	3,73	0,04	-1,412	6,82	0,07	-1,135
47,92	1,681	6,2	0,07	-1,18	9,95	0,11	-0,957
95,83	1,982	10,9	0,12	-0,912	13,5	0,16	-0,807
191,67	2,283	16,46	0,2	-0,705	19,18	0,24	-0,625
383,33	2,584	29,04	0,41	-0,388	31,27	0,46	-0,342
766,67	2,885	49,72	0,99	-0,005	49,83	0,99	-0,003



Graf 20: Závislosť $\log(\Gamma)$ na $\log c$, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* na výluhu trosky s upravenými koncentráciami, $t = (15 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

Tab. 26: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* pre výluh trosky po 15 a 30 minútach, upravené koncentrácie, $t = (15 \pm 0,1)^\circ\text{C}$.

ECx	15 min.	30 min.
	[ml/l]	
5	32,98	20,29
10	78,35	53,92
20	200,39	155,67
50	766,67	766,67

Maximálne dosiahnuté inhibície pri týchto testoch boli takmer presne 50 %, preto za hodnotu EC50 pri teste výluhu trosky na *Vibrio fischeri* bola považovaná najvyššia použitá koncentrácia a teda 766,67 ml výluhu trosky na 1 l roztoku.

Vyššie inhibície boli dosiahnuté pri testoch na stavebnom odpade. Stavebný odpad bol teda posúdený ako mierne toxickejší pre baktériu *Vibrio fischeri*. Inhibície dosiahnuté po 15 a 30 minútach boli vo všetkých prípadoch takmer totožné, dá sa teda predpokladať, že čas expozície v tomto prípade nemá významný vplyv.

Wedding a kol. (2013) [53] vo svojej práci určili EC50 trosky. Najvyššia testovaná koncentrácia vzorky bola 82 %, pričom 100 % predstavuje neriedenú vzorku. Prepočtom na použité jednotky v tejto práci je to 820 ml/l. Bolo zistené, že hodnota EC50 je väčšia ako najkoncentrovanejšia testovaná vzorka. V tejto práci bolo stanovené

EC50 pre trosku rovné najvyššej testovanej koncentrácii a teda 766,67 ml/l. Dá sa teda predpokladať, že troska testovaná v tejto práci je toxickejšia pre *Vibrio fischeri* ako troska testovaná v práci Weding a kol. Rozdiely však neboli veľmi významné, preto je možné trosku posúdiť ako ekotoxikologicky nevýznamnú, rovnako ako v spomínanej práci.

6 Záver

Cieľom tejto diplomovej práce bolo stanoviť ekotoxickosť stavebného odpadu a trosky. Vplyv týchto odpadov na životné prostredie je nutné poznať pri rozhodovaní o tom, ako s nimi bude naložené. Pre získanie informácií o materiáloch boli prevedené chemické analýzy. Na určenie ekotoxickosti materiálov a výluhov z nich pripravených boli použité štyri ekotoxikologické testy.

Na stanovenie semichronickej toxicity bola použitá horčica biela. Horčica predstavuje zástupcu kultúrnych plodín. Tento test bol najskôr prevedený na výluhoch odpadov. Test na výluhoch oboch odpadov nebolo možné vyhodnotiť. Pri tomto teste došlo k stimulácii rastu korenkov horčice (10-40%). Následne bolo preto pristúpené ku kontaktným testom na odpadoch. Boli získané hodnoty EC₅₀ pre 72 hodinový semichronický kontaktný test. Hodnota EC₅₀ pre stavebný odpad bola 51,29 g/l a pre trosku 40,76 g/l. Pre horčicu bola teda troska o 20,53 % toxickájšia ako stavebný odpad.

Stanovenie akútnej toxicity bolo prevedené na žiabronôžke soľnej. Tento test patrí medzi akvatické testy a teda bol prevedený na výluhoch odpadov a bol vyhodnotený po 24 a 48 hod. Efektívne koncentrácie boli vyhodnotené z probitovej lineárnej závislosti. Po 24 hod. bolo EC₅₀ pre stavebný odpad 195,20 ml/l a pre trosku 107,29 ml/l. Hodnota EC₅₀ po 48 hod pre stavebný odpad bola 29,33 ml/l a pre trosku 28,95 ml/l. Po 24 hodinách bol pre žiabronôžku výluh trosky toxický o 45 % ako výluh stavebného odpadu. Po 48 hodinách bol toxický účinok oboch výluhov takmer rovnaký.

Na stanovenie akútnej toxicity bol vybraný aj odolnejší organizmus ako je žiabronôžka a to nitel'nica. Išlo o akvatický test, teda prevádzaný na výluhu. Test bol urobený iba pre výluh trosky, ktorá vykazovala vyššiu toxicitu pre žiabronôžku. Po štandardnej dobe (96 hod.) nebola dosiahnutá úmrtnosť 50 %. Test bol teda ponechaný dlhší čas (12 dní). Stanovená hodnota EC₅₀ bola 130,34 ml/l. Avšak po 12 dňoch boli pozmenené počiatočné podmienky testu. Nitel'nice nemali dostatok potravy, ani kyslíku a teda úmrtnosť nemusela byť spôsobená toxicitou výluhu.

Testy boli doplnené o test zahasenia bioluminiscencie morskej baktérie *Vibrio fischeri* (test na destruentoch). Tento test bol vyhodnotený po 15 a po 30 minútach na výluhoch trosky aj stavebného odpadu. Hodnota EC₅₀ po 15 minútach stanovená pre výluh stavebného odpadu bola 740,20 ml/l a pre výluh trosky 766,67 ml/l. Testom vyhodnoteným po 30 minútach boli získané hodnoty EC₅₀ pre výluh stavebného

odpadu 778,79 ml/l a pre výluh trosky 766,67 ml/l. Hodnoty EC50 po 15 aj 30 minútach pre oba výluhy boli veľmi podobné. Doba expozície nemala významný vplyv na toxicitu.

Všetky testy okrem testu na nitel'niciach sú vhodné pre testovanie týchto typov materiálov. Nitel'nice sú veľmi odolný organizmus, ktorý je schopný prežiť aj v znečistenom prostredí (preto nie je vhodné na testovanie tohto typu materiálov). Ako najvhodnejší test bol posúdený test zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri*. Tento test je bežne používaný v krajinách západnej Európy, ale na Slovensku a v Českej republike ešte nie je veľmi rozšírený. Súvisí to s vyššími nákladmi na testovanie (napr. oproti testu na horčici, alebo perloočkách), avšak nespornou výhodou je rýchlosť testu, preto je tento test dobre využiteľný na rýchle zistenie vplyvu látky na životné prostredie.

Súborom týchto štyroch testov bolo možné posúdiť toxicitu testovaných materiálov. Výluhy pripravené zo stavebného odpadu a trosky svojím zložením nezodpovedajú zloženiu pôvodných materiálov. Výluh je nutné považovať za novú vzorku. Testované výluhy nevykazovali toxicitu pre horčicu bielu, práve naopak, stimulovali jej rast. Výluhy teda nepredstavujú žiadne významné riziko pre kultúrne plodiny. Avšak kontaktné testy preukázali toxicitu materiálov pre horčicu bielu. Testované odpady teda predstavujú riziko pre kultúrne plodiny iba pri priamom kontakte s rastlinou. Akútne testy na výluhoch prevedené pomocou citlivých organizmov (*Artemia salina* a *Vibrio fischeri*), ukázali miernu toxicitu výluhov pre tieto organizmy. Avšak pri použití odolnejšieho organizmu nebola zistená žiadna toxicita. Výluhy sú teda mierne toxické pre citlivé organizmy, na odolnejšie organizmy však vplyv nemajú. Kontaktné testy a aj testy na výluhoch preukázali vyššiu toxicitu trosky oproti stavebnému odpadu. Oba tieto odpady sú však vhodné na ďalšie spracovanie a použitie v stavebnom priemysle s prihliadnutím na spôsob využitia.

Ďalší výskum v oblasti toxicity stavebných a priemyselných odpadov by mal byť zameraný na citlivejšie organizmy. Jedným z testov by mohla byť skúška inhibície rastu sladkovodných rias *Desmodesmus subspicatus* a *Pseudokirchineriella subcapitata*. Na riasu je možné previezť aj kontaktné testy, ktoré by boli tiež vhodné na testovanie materiálov v pevnom stave. Ďalším veľmi citlivým organizmom vhodným na testovanie výluhov týchto odpadov je chvostoskok.

7 Literatura

- [1] CHAPMAN, Peter M. Ecotoxicology and Pollution - Key Issues. *Marine Pollution Bulletin*. 1995, 95(31), 167-177.
- [2] KOČÍ, V. Význam testů toxicity pro hodnocení vlivů látek na životní prostředí. *Chem. Listy*. 2006, 10 (10), 882-888.
- [3] CONNELL, D. *Introduction to ecotoxicology*. Malden, Mass.: Blackwell Science, 1999.
- [4] ANDEĚL, Petr. *Ekotoxikologie, bioindikace a biomonitoring*. Vyd. 1. Liberec: Evernia, 2011.
- [5] KOČÍ, Vladimír. *Environmentální dopady: posuzování životního cyklu*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013.
- [6] MARŠÁLEK, B. Ekotoxikologické biotesty: rozdělení, přehled, použití: Ekotoxikologické Biotesty I. Pracovní konference - Seč u Chrudimi: Vodní zdroje Ekomonitor, 2002.
- [8] FARGAŠOVÁ, Agáta. *Environmentálna toxikológia a všeobecná ekotoxikológia*. 1. vyd. Bratislava: Orman, 2008.
- [9] KOČÍ, V. a MOCOVARÁ, K. *Ekotoxikologie pro chemiky*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2009.
- [10] CALOW, Peter (ed.). *Handbook of ecotoxicology*. Oxford: Blackwell scientific publications, 1994.
- [11] PAVLÍKOVÁ, Daniela. *Ekotoxikologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, 2008.
- [12] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Encyklopedie hydrobiologie* [online]. VŠCHT Praha, 2007, [cit. 2016-02-04]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-006/
- [13] DIETRICH, D. R.; HITZFELD, B. C.: The Handbook of Environmental Chemistry-Bioaccumulation and Ecotoxicity of Synthetic Musks in the Aquatic Environment. Berlin: Springer-Verlag. 2004, 234-242.
- [14] LANDIS, Wayne G a Ming-Ho YU. *Introduction to environmental toxicology: impacts of chemicals upon ecological systems*. 3rd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 2004.
- [15] No-Observed-Effect Level (NOEL). *OpenToxipedia* [online]. 2010 [cit. 2016-04-16]. Dostupné z: [http://www.opentoxipedia.org/index.php/No-Observed-Effect_Level_\(NOEL\)](http://www.opentoxipedia.org/index.php/No-Observed-Effect_Level_(NOEL))
- [16] Lowest observed effect level. *OpenToxipedia* [online]. 2010 [cit. 2016-04-16]. Dostupné z: http://www.opentoxipedia.org/index.php/Lowest_observed_effect_level
- [17] Kočí, V., Rakovický, T., Švagr, A.: *Testy akutní a semichromatické toxicity*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. 2001.
- [18] DORSAINVIL, F. Characterisation and modelling of white mustard (*Sinapis alba* L.) emergence under several sowing conditions. *European Journal of Agronomy*. 2005, 23 (2), 146-158.
- [19] SEIDEMANN, Johannes. *World spice plants*. Berlin: Springer, 2005.

- [20] *Laboratoř ekotoxikologie a LCA Ústav chemie a ochrany životního prostředí* [online]. [cit. 2016-03-07]. Dostupné z: http://old.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/03_%20horcice.pdf
- [21] *Laboratoř ekotoxikologie a LCA Ústav chemie a ochrany životního prostředí* [online]. [cit. 2016-02-04]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/Materi%C3%A1ly.html>
- [22] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Aplikovaná a technická hydrobiologie*. 2. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2003.
- [23] DVOŘÁK, P. 1995. Modifikovaný test s *A. salina* pro sledování vlivu interakcí cizorodých látek. In: Sborník referátů ze 7. konference Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. In: Toxicita a biodegradabilita odpadů a látek významných ve vodním prostředí. Milenovice: Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický a Aqachemie, s. 25-29.
- [24] BROWNE, Robert A, Patrick SORGELOOS a Clive N TROTMAN. *Artemia biology*. Boca Raton: CRC Press, 1991.
- [25] KOČÍ, V., RAKOVICKÝ, T. a ŠVAGR, A. *Testy akutní toxicity na žábřonožkách* [online]. VŠCHT Praha, interní text. Laboratoř ekotoxikologie a LCA, 2001, [cit. 2016-02-04]. Dostupné z: <http://ekotoxikologie.sweb.cz/toxlab/vyuka/artemia.htm>
- [26] SORGELOOS, P. et al. Use of the brine shrimp, *Artemia salina* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 2001, 200 (1-2), 147-159.
- [27] PAVLOVSKÝ, J. Cvičení z ekotoxikologických testů. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2014.
- [28] ISO 11348-2. *Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test) - Part 2: Method using liquid-dried bacteria*, 2007.
- [29] ČSN EN ISO 11348-3. Jakost vod - Stanovení inhibičního účinku vzorků vod na světelnou emisi *Vibrio fischeri* (Zkouška na luminiscenčních bakteriích) - Část 3: Metoda se sušenými bakteriemi, 2000.
- [30] *Laboratoř ekotoxikologie a LCA Ústav chemie a ochrany životního prostředí* [online]. [cit. 2016-03-07]. Dostupné z: http://old.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/7_Vibrio.pdf
- [31] GEBAUEROVÁ, H. Srovnání specifických ekotoxikologických zkoušek pro p-fenylendiamin, včetně jeho sorpce na běžný typ jílového minerálu. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2014.
- [32] PANÁČEK, Aleš a Anna BALZEROVÁ. *Základy toxikologie a ekotoxikologie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2013.
- [33] 184. Zákon o odpadech a o změně některých dalších zákonů. In: 184. Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Praha: Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Praha, 2014, částka 75, číslo 184.
- [34] Nařízení komise (EU) č. 1357/2014 ze dne 18. prosince 2014, kterým se nahrazuje příloha III směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/98/ES o odpadech a o zrušení některých směrnic.

- [35] Ministerstvo životního prostředí [online]. [cit. 2016-02-04]. Dostupné z: http://www.mzp.cz/cz/stavebni_demolicni_odpady
- [36] ROVNANÍK, Pavel a Pavla ROVNANÍKOVÁ. *Stavební chemie*. Vyd. 1. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2014.
- [37] HILSCHNEROVÁ, K. *Legislativní rámec ekotoxikologických biotestů*. [online]. 2009 [cit. 2016-02-1]. Dostupné z: <http://is.muni.cz/el/1431/jaro2009/Bi5620/um/7865700/Legislativa2009.pdf?fakulta=1431;o>
- [38] *Laboratoř ekotoxikologie a LCA Ústav chemie a ochrany životního prostředí* [online]. [cit. 2016-02-04]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/dokumenty>
- [39] ASSMUTH, T. a S. PENTTILÄ. 1995. Characteristics, determinants, and interpretations of acute lethality in daphnids exposed to complex waste leachates. *Aquatic Toxicology*. 31(1), 125-141.
- [40] ČSN EN ISO 6341. *Kvalita vod – Zkouška inhibice pohyblivosti Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) – Zkouška akutní toxicity*. 2012.
- [41] ISO 6341. *Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test*. Brusel, 2012.
- [42] ČSN EN ISO 8692. *Kvalita vod - zkouška inhibice růstu sladkovodních zelených řas*. 2004.
- [43] ISO 8692. *Water quality - Fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae*. 2012.
- [44] ČSN EN ISO 7346 – 2. *Jakost vod - Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae) - Část 2: Obnovovací metoda*. 1999.
- [45] ISO 7346 - 2. *Water quality - Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] - Part 2: Semi-static method*. 1996.
- [46] PAVLOVSKÝ, J. *Toxikologie*. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2014.
- [47] DOLEŽALOVÁ WEISSMANNOVÁ, H. a H. ZLÁMALOVÁ GARGOŠOVÁ. 2008. Ecotoxicological testing and test methods of chemicals. *Chemické listy*. 102(15), 1234 - 1245.
- [48] KOČÍ, V., K. MOCO VÁ, M. KULOVANÁ a S. VOSÁHLOVÁ. Phytotoxicity tests of solid wastes and contaminated soils in the Czech Republic. *Environmental Science and Pollution Research*. 2010, 2010(3), 611-624.
- [49] Věstník MTP č. 4/2007 Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů.
- [50] CEN pr EN 14735, 2003. Characterization of waste—preparation of waste samples for ecotoxicity tests. 2003. European Committee for Standardization. Brussels: European Committee for Standardization.

- [51] WILKE, B.M., F. RIEPERT, Ch. KOCH a T. KÜHNE. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2008, 70(2), 283-293.
- [52] BADERNA, D. Chemical characterization and ecotoxicity of three soil foaming agents used in mechanized tunneling. *Journal of Hazardous Materials*. 2015, 15(296), 210-220.
- [53] WENDLING, L. Geochemical and ecotoxicological assessment of iron- and steel-making slags for potential use in environmental applications. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2013, 32(11), 2602–2610.
- [54] FLOHR, L. Acute and Chronic Toxicity of Soluble Fractions of Industrial Solid Wastes on *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *The Scientific World Journal*. 2012, 2012, 1-10. Dostupné také z: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2012/643904/>
- [55] HONG, J. Environmental assessment of sewage sludge as secondary raw material in cement production - A case study in China. *Waste Management*. 2011, 31(6), 1364-1371.
- [56] STIERNSTRÖM, S. An ecotoxicological evaluation of aged bottom ash for use in constructions. *Waste Management*. 2014, 34(1), 86-92.
- [57] GODINHO-CASTRO, A.P. Incorporation of gypsum waste in ceramic block production: Proposal for a minimal battery of tests to evaluate technical and environmental viability of this recycling process. *Waste Management*. 2012, 32(1), 153-157.
- [58] *Laboratoř ekotoxikologie a LCA Ústav chemie a ochrany životního prostředí* [online]. [cit. 2016-03-07]. Dostupné z: http://old.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/06_Artemia.pdf
- [59] ČSN EN 12457-4. Charakterizace odpadů - Vyluhování - Ověřovací zkouška vyluhovatelnosti zrnitých odpadů a kalů - Část 4: Jednostupňová vsádková zkouška při poměru kapalně a pevné fáze 10 l/kg pro materiály se zrnitostí menší než 10 mm (bez zmenšení velikosti částic, nebo s ním). 2003.
- [60] ISO 11465. Soil quality - Determination of dry matter and water content on a *mass basis* - *Gravimetric method*. 1993.
- [61] TICHÝ, M.; ROTH, Z.; BLÁHA, K.; WORTH P., A.: Alternativní metody testování toxicity chemických látek in silico. *Chem. Listy*. 2005, 99 (10), 675-681.
- [62] METODICKÝ POKYN ODBORU ODPADŮ KE STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ. Ministerstvo životního prostředí České republiky, Praha 11/2007.
- [63] OECD. *OECD* [online]. [cit. 2016-04-16]. Dostupné z: <http://www.oecd.org/>

8 Prílohy

Príloha 1: Dĺžky korenkov horčice bielej pre test výluhu stavebného odpadu.

semienko	slepé stanovenie	riedenie								koncentrovaný
		400x	200x	100x	50x	20x	10x	5x	2x	
1	43	52	46	23	53	52	51	23	72	62
2	42	45	57	35	36	12	65	25	53	35
3	31	48	39	50	42	33	52	40	18	38
4	28	39	43	41	40	41	70	55	54	33
5	20	51	15	32	41	34	42	31	56	30
6	22	52	65	28	72	32	12	53	62	65
7	20	39	60	42	11	42	46	39	33	46
8	21	36	55	28	25	45	66	63	35	40
9	35	38	51	35	52	32	18	38	16	43
10	42	35	62	50	35	21	60	44	29	29
11	46	25	23	43	39	40	2	50	15	31
12	8	18	11	38	19	54	31	46	42	28
13	16	16	21	35	25	25	15	45	55	27
14	12	42	31	28	53	35	36	34	2	5
15	13	31	30	25	48	28	2	38	26	20
16	39	28	32	36	43	24	39	19	55	67
17	36	36	2	32	28	30	50	15	8	15
18	31	3	3	30	5	31	22	51	50	3
19	22	2	0	29	35	30	15	10	11	20
20	18	25	35	2	42	5	0	0	29	19
priemerná dĺžka [mm]	27	33	34	33	37	33	35	36	36	33
inhibícia [%]	-	-21	-25	-21	-37	-20	-27	-32	-32	-20

Príloha 2: Namerané dĺžky korienkov pre kontaktných testoch.

Výsledky kontaktných testov stavebného odpadu uvedené v mm:

semienko	slepé stanovenie	0,02 g	0,05 g	0,1 g	0,3 g	0,5 g	0,7 g	1 g	3 g	5 g	7 g
1	56	35	25	15	18	16	12	12	8	8	12
2	40	38	28	18	14	18	16	10	6	1	8
3	32	32	32	28	15	12	18	8	1	5	6
4	41	30	35	31	16	19	25	5	5	12	13
5	30	36	21	16	26	15	2	8	11	10	2
6	37	39	38	29	15	16	16	2	8	3	4
7	5	41	39	35	28	28	14	11	6	4	15
8	35	28	20	18	21	13	15	2	12	5	8
9	46	29	21	16	20	12	4	6	10	6	10
10	28	32	18	13	10	11	12	8	9	3	4
11	35	21	35	19	5	8	10	12	6	8	3
12	10	20	19	28	11	6	8	11	8	2	5
13	32	25	30	21	12	12	8	3	4	1	2
14	48	30	15	25	18	15	3	6	3	1	2
15	8	36	41	24	25	24	0	10	10	3	3
16	12	18	15	38	29	23	0	2	5	4	10
17	35	2	38	8	32	20	15	12	2	2	12
18	32	5	26	6	30	16	12	11	8	0	0
19	22	10	43	4	8	19	1	3	3	0	0
20	5	15	37	0	6	20	0	0	4	0	0

semienko	slepé stanovenie	0,02 g	0,05 g	0,1 g	0,3 g	0,5 g	0,7 g	1 g	3 g	5 g	7 g
1	22	35	28	16	18	16	6	8	8	15	3
2	35	32	25	18	13	22	5	10	6	8	6
3	46	30	26	25	15	10	12	4	3	3	8
4	40	18	28	16	12	12	10	1	0	9	4
5	32	31	25	13	10	18	3	3	12	10	3
6	31	28	20	18	16	15	12	6	8	4	5
7	11	29	28	29	28	13	10	10	6	3	6
8	42	35	36	26	25	12	6	8	10	12	2
9	40	30	31	31	31	8	8	9	1	8	10
10	38	12	35	29	20	6	3	7	3	6	11
11	36	18	28	23	18	5	9	10	2	10	8
12	41	36	26	16	19	16	10	9	10	5	3
13	25	32	10	13	25	8	11	11	8	13	5
14	32	30	20	28	16	15	18	3	6	11	9
15	14	35	21	25	13	19	12	12	15	6	7
16	31	41	28	16	15	12	16	8	3	2	6
17	25	30	25	13	12	13	13	3	10	8	3
18	28	28	35	19	18	8	10	0	11	3	0
19	53	6	42	21	13	0	12	0	1	1	0
20	1	23	21	23	12	12	3	0	0	0	10

semienko	slepé stanovenie	0,02 g	0,05 g	0,1 g	0,3 g	0,5 g	0,7 g	1 g	3 g	5 g	7 g
1	42	38	45	16	16	18	6	8	6	8	6
2	37	36	40	13	19	13	8	10	3	5	4
3	40	29	30	18	15	35	10	5	12	3	3
4	38	56	29	19	18	12	5	2	8	10	5
5	42	18	43	25	12	19	12	10	10	5	8
6	15	10	20	18	16	16	13	4	13	6	12
7	39	46	25	16	8	18	6	3	12	3	10
8	35	39	30	25	11	19	10	6	10	8	4
9	38	32	25	19	8	15	11	5	8	6	3
10	42	29	13	18	10	13	2	1	16	10	6
11	41	16	16	16	15	8	12	12	3	3	10
12	39	18	18	13	19	6	1	8	8	2	11
13	28	32	38	18	21	10	6	4	6	11	8
14	15	5	20	12	25	3	13	3	2	6	13
15	29	16	18	23	16	15	8	6	3	8	2
16	25	25	36	20	13	12	13	1	0	9	6
17	38	8	13	16	8	10	6	1	0	11	14
18	52	21	18	19	6	3	3	8	1	13	3
19	16	3	38	28	10	8	2	3	3	2	0
20	46	25	43	20	15	11	0	0	4	6	0

Výsledky kontaktných testov stavebného odpadu uvedené v mm:

semienko	slepé stanovenie	0,02 g	0,05 g	0,1 g	0,3 g	0,5 g	0,7 g	1 g	3 g	4 g	5 g
1	83	35	24	35	10	22	30	25	13	15	8
2	42	38	18	31	12	21	12	22	18	21	9
3	35	41	15	29	15	18	10	13	26	16	12
4	25	29	29	32	11	20	8	18	15	10	18
5	23	19	21	25	19	15	9	12	12	8	1
6	32	43	20	20	28	12	15	10	10	6	3
7	28	42	17	23	22	11	16	16	6	3	2
8	45	31	12	15	16	18	12	11	6	1	10
9	50	21	29	18	29	10	11	9	8	4	8
10	33	8	20	29	31	8	9	8	10	5	9
11	24	25	11	35	8	6	8	3	12	17	10
12	40	36	8	16	3	11	3	2	5	12	11
13	32	18	33	18	10	3	2	1	4	18	13
14	12	38	13	29	15	3	2	1	13	1	18
15	50	15	11	31	13	12	4	8	2	3	21
16	8	21	8	2	4	15	7	4	2	8	15
17	10	25	38	35	3	13	10	3	2	12	13
18	13	28	1	18	1	18	15	6	3	14	3
19	52	13	0	12	1	3	20	1	15	3	0
20	18	8	25	3	1	1	0	1	11	1	0

semienko	slepé stanovenie	0,02 g	0,05 g	0,1 g	0,3 g	0,5 g	0,7 g	1 g	3 g	4 g	5 g
1	15	38	24	15	13	10	21	13	8	13	10
2	18	33	38	18	10	13	18	16	3	12	1
3	35	15	20	29	15	15	13	12	15	10	3
4	33	12	15	21	12	4	15	10	16	1	5
5	48	16	11	25	10	2	6	8	2	0	8
6	50	31	10	31	11	11	12	6	21	2	8
7	32	35	6	38	31	18	5	10	25	5	12
8	13	28	18	13	29	21	3	15	4	6	15
9	18	12	21	12	34	29	18	13	4	10	16
10	36	10	25	10	12	22	15	12	2	7	21
11	38	11	28	8	15	13	8	25	1	6	3
12	30	13	30	6	18	18	7	4	0	4	1
13	32	15	16	15	21	11	3	11	3	5	1
14	13	19	12	16	20	10	5	3	5	15	2
15	41	25	10	19	11	6	10	8	8	21	8
16	48	28	11	25	8	3	18	6	13	3	6
17	35	29	8	26	6	2	3	3	11	2	7
18	12	12	3	26	3	4	2	1	10	1	3
19	32	18	6	16	1	5	2	1	4	1	0
20	0	5	0	2	1	1	0	0	2	0	0

semienko	slepé stanovenie	0,02 g	0,05 g	0,1 g	0,3 g	0,5 g	0,7 g	1 g	3 g	4 g	5 g
1	53	35	29	20	21	18	12	15	18	15	3
2	28	33	21	18	20	12	13	3	12	3	8
3	51	12	20	17	10	13	1	18	3	6	10
4	45	25	35	30	18	15	4	12	4	8	15
5	43	24	32	29	15	16	8	21	2	10	1
6	40	28	18	18	14	19	10	55	10	11	3
7	31	31	12	16	12	3	15	16	15	3	3
8	30	12	13	12	18	4	20	13	12	2	2
9	21	15	16	11	13	2	16	12	8	1	8
10	18	3	16	14	16	1	13	10	6	1	10
11	16	10	1	17	21	1	17	8	2	0	11
12	13	28	23	19	16	0	12	6	1	5	12
13	25	23	28	21	15	8	8	7	0	6	8
14	28	35	12	25	13	6	4	11	0	2	3
15	15	34	10	1	11	9	3	6	5	8	4
16	13	30	11	3	8	10	1	8	6	10	6
17	29	21	3	6	6	11	1	10	9	11	3
18	33	20	6	9	3	15	0	7	10	3	3
19	36	15	5	11	1	3	0	6	3	3	1
20	21	3	13	0	1	0	5	1	5	2	0

Príloha 3: Probitová tabuľka pre prevedenie úmrtnostných dát v % na probity [9].

%	probit	%	probit	%	probit	%	probit	%	probit	%	probit
0,2	2,122	10,0	3,718	30,0	4,476	50,0	5,000	70,0	5,524	90,0	6,282
0,4	2,348	11,0	3,773	31,0	4,504	51,0	5,025	71,0	5,553	91,0	6,341
0,6	2,488	12,0	3,825	32,0	4,532	52,0	5,050	72,0	5,583	92,0	6,405
0,8	2,591	13,0	3,874	33,0	4,560	53,0	5,075	73,0	5,613	93,0	6,476
1,0	2,574	14,0	3,920	34,0	4,588	54,0	5,100	74,0	5,643	94,0	6,585
1,2	2,743	15,0	3,964	35,0	4,615	55,0	5,126	75,0	5,674	95,0	6,645
1,4	2,803	16,0	4,006	36,0	4,642	56,0	5,151	76,0	5,706	95,5	6,695
1,6	2,856	17,0	4,046	37,0	4,668	57,0	5,176	77,0	5,739	96,0	6,751
1,8	2,903	18,0	4,085	38,0	4,695	58,0	5,202	78,0	5,772	96,5	6,812
2,0	2,946	19,0	4,122	39,0	4,722	59,0	5,228	79,0	5,806	97,0	6,881
2,5	3,040	20,0	4,158	40,0	4,747	60,0	5,253	80,0	5,842	97,5	6,966
3,0	3,123	21,0	4,194	41,0	4,772	61,0	5,278	81,0	5,878	98,0	7,054
3,5	3,188	22,0	4,228	42,0	4,798	62,0	5,305	82,0	5,915	98,2	7,096
4,0	3,249	23,0	4,261	43,0	4,824	63,0	5,332	83,0	5,954	98,4	7,144
4,5	3,305	24,0	4,294	44,0	4,849	64,0	5,358	84,0	5,994	98,6	7,197
5,0	3,355	25,0	4,326	45,0	4,874	65,0	5,385	85,0	6,036	98,8	7,257
6,0	3,445	26,0	4,357	46,0	4,900	66,0	5,412	86,0	6,080	99,0	7,326
7,0	3,524	27,0	4,387	47,0	4,925	67,0	5,440	87,0	6,126	99,2	7,409
8,0	3,595	28,0	4,417	48,0	4,950	68,0	5,468	88,0	6,175	99,4	7,512
9,0	3,659	29,0	4,447	49,0	4,975	69,0	5,496	89,0	6,227	99,6	7,652
										99,8	7,878

Príloha 4: Výsledky testu zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri*.

Výsledky testu zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* výluhu stavebného odpadu:

koncentrácia [ml/l]	I ₀	I ₁₅	k ₁₅ =I ₁₅ /I ₀	k ₁₅	SD		
0	1282 1267	1413 1402	1,1022 1,1066	1,1044	0,003088		
	vzorka	I _{t15}	inhibícia	priemerná inhibícia	Γ	SD inhibície	
2,86	1276	1417,0	1409,2	-0,56	-3,49	-0,034	4,157
	1237	1454,0	1366,1	-6,43			
5,73	1148	1285,0	1267,8	-1,36	-0,67	-0,007	0,967
	1228	1356,0	1356,2	0,01			
11,46	1280	1405,0	1413,6	0,61	1,28	0,013	0,946
	1303	1411,0	1439,0	1,95			
22,92	1322	1412,0	1460,0	3,29	2,79	0,029	0,696
	1330	1435,0	1468,8	2,30			
45,83	1342	1406,0	1482,1	5,13	4,43	0,046	0,999
	1343	1428,0	1483,2	3,72			
91,67	1351	1366,0	1492,0	8,45	8,78	0,096	0,467
	1313	1318,0	1450,0	9,11			
183,34	1323	1199,0	1461,1	17,94	16,57	0,199	1,928
	1226	1148,0	1354,0	15,21			
366,76	1306	1009,0	1442,3	30,04	30,82	0,446	1,106
	1316	994,0	1453,3	31,61			
733,35	1243	624,5	1372,7	54,51	53,19	1,136	1,862
	1302	692,0	1437,9	51,87			

koncentrácia [ml/l]	I ₃₀	k ₃₀ =I ₃₀ /I ₀	k ₃₀	SD			
0	1542 1534	1,2028 1,2107	1,2068	0,005604			
	I _{t30}	inhibícia	priemerná inhibícia	Γ	SD inhibície		
2,86	1555,0	1539,8	-0,98	-4,02	-0,039	4,288	
	1598,0	1492,8	-7,05				
5,73	1433,0	1385,4	-3,44	-2,43	-0,024	1,425	
	1503,0	1481,9	-1,42				
11,46	1582,0	1544,7	-2,42	-0,18	-0,002	3,167	
	1540,0	1572,4	2,06				
22,92	1571,0	1595,4	1,53	1,64	0,017	0,154	
	1577,0	1605,0	1,74				
45,83	1558,0	1619,5	3,80	3,22	0,033	0,822	
	1578,0	1620,7	2,63				
91,67	1514,0	1630,3	7,14	6,99	0,075	0,205	
	1476,0	1584,5	6,85				
183,34	1372,0	1596,6	14,07	13,64	0,158	0,602	
	1284,0	1479,5	13,21				
366,76	1167,0	1576,0	25,95	26,93	0,369	1,377	
	1145,0	1588,1	27,90				
733,35	698,5	1500,0	53,43	51,98	1,082	2,059	
	777,4	1571,2	50,52				

Výsledky testu zahasenia bioluminiscencie *Vibrio fischeri* výluhu trosky:

koncentrácia [ml/l]	I ₀	I ₁₅	k ₁₅ =I ₁₅ /I ₀	k ₁₅	SD		
0	1227 1213	1371 1374	1,1174 1,1327	1,1250	0,010868		
	vzorek	I _{t15}	Inhibícia	Priemerná inhibícia	Γ	SD inhibície	
2,99	1224 1211	1393,0 1357,0	1377,1 1362,4	-1,16 0,40	-0,38	-0,004	1,101
5,99	1247 1255	1360,0 1388,0	1402,9 1411,9	3,06 1,69	2,38	0,024	0,965
11,98	1251 1283	1387,0 1385,0	1407,4 1443,4	1,45 4,05	2,75	0,028	1,836
23,96	1317 1306	1423,0 1418,0	1481,7 1469,3	3,96 3,49	3,73	0,039	0,331
47,92	1324 1352	1394,0 1430,0	1489,6 1521,1	6,42 5,99	6,20	0,066	0,303
95,83	1343 1382	1364,0 1367,0	1510,9 1554,8	9,72 12,08	10,90	0,122	1,665
191,67	1330 1342	1272,0 1239,0	1496,3 1509,8	14,99 17,94	16,46	0,197	2,083
383,33	1341 1346	1062,0 1083,0	1508,7 1514,3	29,61 28,48	29,04	0,409	0,796
766,67	1391 1400	777,3 801,4	1564,9 1575,1	50,33 49,12	49,72	0,989	0,856

Koncentrácia [ml/l]	I ₃₀	k ₃₀ =I ₃₀ /I ₀	k ₃₀	SD			
0	1508 1490	1,2290 1,2284	1,2287	0,000463			
	I _{t30}	inhibícia	Priemerná inhibícia	Γ	SD inhibície		
2,99	1522,0 1480,0	1503,9 1487,9	-1,20 0,53	-0,33	-0,003	1,228	
5,99	1508,0 1515,0	1532,2 1542,0	1,58 1,75	1,66	0,017	0,123	
11,98	1503,0 1509,0	1537,1 1576,4	2,22 4,28	3,25	0,034	1,455	
23,96	1521,0 1482,0	1618,2 1604,7	6,01 7,64	6,82	0,073	1,159	
47,92	1456,0 1505,0	1626,8 1661,2	10,50 9,40	9,95	0,110	0,775	
95,83	1438,0 1458,0	1650,1 1698,0	12,86 14,14	13,50	0,156	0,906	
191,67	1353,0 1300,0	1634,2 1648,9	17,20 21,16	19,18	0,237	2,796	
383,33	1140,0 1129,0	1647,7 1653,8	30,81 31,73	31,27	0,455	0,652	
766,67	864,2 856,1	1709,1 1720,2	49,44 50,23	49,83	0,993	0,563	

SD – smerodatná odchylka

9 Zoznam obrázkov

Obr. 1: Odhad hodnoty EC50 [17].	6
Obr. 2: Rozkvitnutá rastlina horčice bielej a dĺžka koreňa rastliny [19,20].	7
Obr. 3: Larvy žiabronôžiek soľných – <i>Artemia salina</i> [26].	8
Obr. 4: Baktéria <i>Vibrio fischeri</i> [30].	9
Obr. 5: Schéma znázorňujúca vznik a pôsobenie látok v životnom prostredí [32].	11
Obr. 6: Postupový diagram testov hodnotenia ekotoxicity [49].	14
Obr. 7: Nasadené semená horčice bielej v Petriho miske.	24
Obr. 8: Meranie dĺžky koreňa horčice bielej po 72 hod, semichronický test, slepé stanovenie, $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ (foto autorka).	24
Obr. 9: Vyklíčené semená horčice bielej po 72 hod (A – slepé stanovenie, B – navážka 7 g), kontaktný test na stavebnom odpade, $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ (foto autorka).	25
Obr. 10: Nasadené nitel'nice pre akútny test (foto autorka).	27
Obr. 11: Riedenie testovanej vzorky dvojkovou metódou v rade A (vytvorené autorkou diplomovej práce).	28
Obr. 12: Rozpipetovanie vzorky a baktérie do všetkých kyviek [31].	29
Obr. 13: Luminometer LUMIStox 300 s inkubačným blokom nastaveným na $(15\pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ (foto autorka).	29

10 Zoznam tabuliek

Tab. 1: Zásobné roztoky pre semichronické testy na horčici bielej [20].....	18
Tab. 2: Zloženie laboratórnej morskej vody [58].....	19
Tab. 3: Riedenie vodného výluhu stavebného odpadu a trosky pre semichronický test na horčici bielej.....	24
Tab. 4: Riedenie vodného výluhu stavebného odpadu a trosky pre akútny test na žiabronôžke soľnej.....	26
Tab. 5: Riedenie výluhu trosky pre akútny test na nitel'niciach.....	27
Tab. 6: Obsah sušiny a vlhkosť vzoriek.....	30
Tab. 7: Obsah oxidov vo vzorkách stanovený XRFS.....	30
Tab. 8: Celkový povrch, objem mikropórov a mezopórov pre stavebný odpad a trosku.....	32
Tab. 9: Namerané parametre vodných výluhov odpadov.....	32
Tab. 10: Koncentrácie vybraných iónov stanovené vo výluhoch pomocou AAS.....	33
Tab. 11: Hodnoty EC_x semichronického testu stavebného odpadu pre horčicu bielu, 72 hod.....	35
Tab. 12: Hodnoty EC_x semichronického testu trosky pre horčicu bielu, 72 hod.....	37
Tab. 13: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh stavebného odpadu, 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	38
Tab. 14: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh stavebného odpadu, 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	39
Tab. 15: Efektívne koncentrácie pre akútny test toxicity výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej pre 24 a 48 hod.....	41
Tab. 16: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh trosky, 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	42
Tab. 17: Výsledky akútneho testu na žiabronôžke soľnej pre výluh trosky, 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	43
Tab. 18: Efektívne koncentrácie pre akútny test toxicity výluhu trosky na žiabronôžke soľnej pre 24 a 48 hod.....	45
Tab. 19: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test vodného výluhu stavebného odpadu na <i>Vibrio fischeri</i> , $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	48
Tab. 20: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> pre výluh stavebného odpadu po 15 a 30 minútach, $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	49
Tab. 21: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test výluhu stavebného odpadu s upravenými koncentraciami na <i>Vibrio fischeri</i> , $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	49
Tab. 22: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> pre výluh stavebného odpadu po 15 a 30 minútach, upravené koncentrácie, $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	50

Tab. 23: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test vodného výluhu trosky na <i>Vibrio fischeri</i> , $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$	51
Tab. 24: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> pre výluh trosky po 15 a 30 minútach, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$	52
Tab. 25: Namerané a vypočítané hodnoty pre 15 a 30 minútový test výluhu trosky s upravenými koncentraciami na <i>Vibrio fischeri</i> , $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$	52
Tab. 26: Efektívne koncentrácie pre test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> pre výluh trosky po 15 a 30 minútach, upravené koncentrácie, $t = (15 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$	53

11 Zoznam grafov

Graf 1: Adsorpčne-desorpčná izoterma stavebného odpadu.....	31
Graf 2: Adsorpčne-desorpčná izoterma trosky.....	31
Graf 3: Sigmoidálna závislosť inhibície na log c pre stavebný odpad, test na horčici bielej, 72 hod., $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$	34
Graf 4: Lineárna závislosť inhibície na log c pre stavebný odpad test na horčici bielej, 72 hod., $t = 22\text{ }^{\circ}\text{C}$	34
Graf 5: Sigmoidálna závislosť inhibície na log c pre trosku test na horčici bielej, 72 hod., $t = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$	36
Graf 6: Lineárna závislosť inhibície na log c pre trosku test na horčici bielej, 72 hod., $t = 23\text{ }^{\circ}\text{C}$	36
Graf 7: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	39
Graf 8: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	40
Graf 9: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	40
Graf 10: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu stavebného odpadu na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	41
Graf 11: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	43
Graf 12: Sigmoidálna závislosť mortality na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	44
Graf 13: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 24 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	44
Graf 14: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu trosky na žiabronôžke soľnej po 48 hod., $t = 27\text{ }^{\circ}\text{C}$	45
Graf 15: Sigmoidálna závislosť úmrtnosti na log c pre akútny test výluhu trosky na nitel'niciach po 12 dňoch, $t = 22^{\circ}\text{C}$	46
Graf 16: Lineárna závislosť probitov na log c pre akútny test výluhu trosky na nitel'niciach po 12 dňoch, $t = 22^{\circ}\text{C}$	47
Graf 17: Závislosť log (Γ) na log c, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> na výluhu stavebného odpadu, $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	48
Graf 18: Závislosť log (Γ) na log c, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> na výluhu stavebného odpadu s upravenými koncentráciami, $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	50
Graf 19: Závislosť log (Γ) na log c, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> na výluhu trosky, $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	51
Graf 20: Závislosť log (Γ) na log c, pre 15 a 30 minútový test zahasenia bioluminiscencie <i>Vibrio fischeri</i> na výluhu trosky s upravenými koncentráciami, $t = (15 \pm 0,1)\text{ }^{\circ}\text{C}$	53